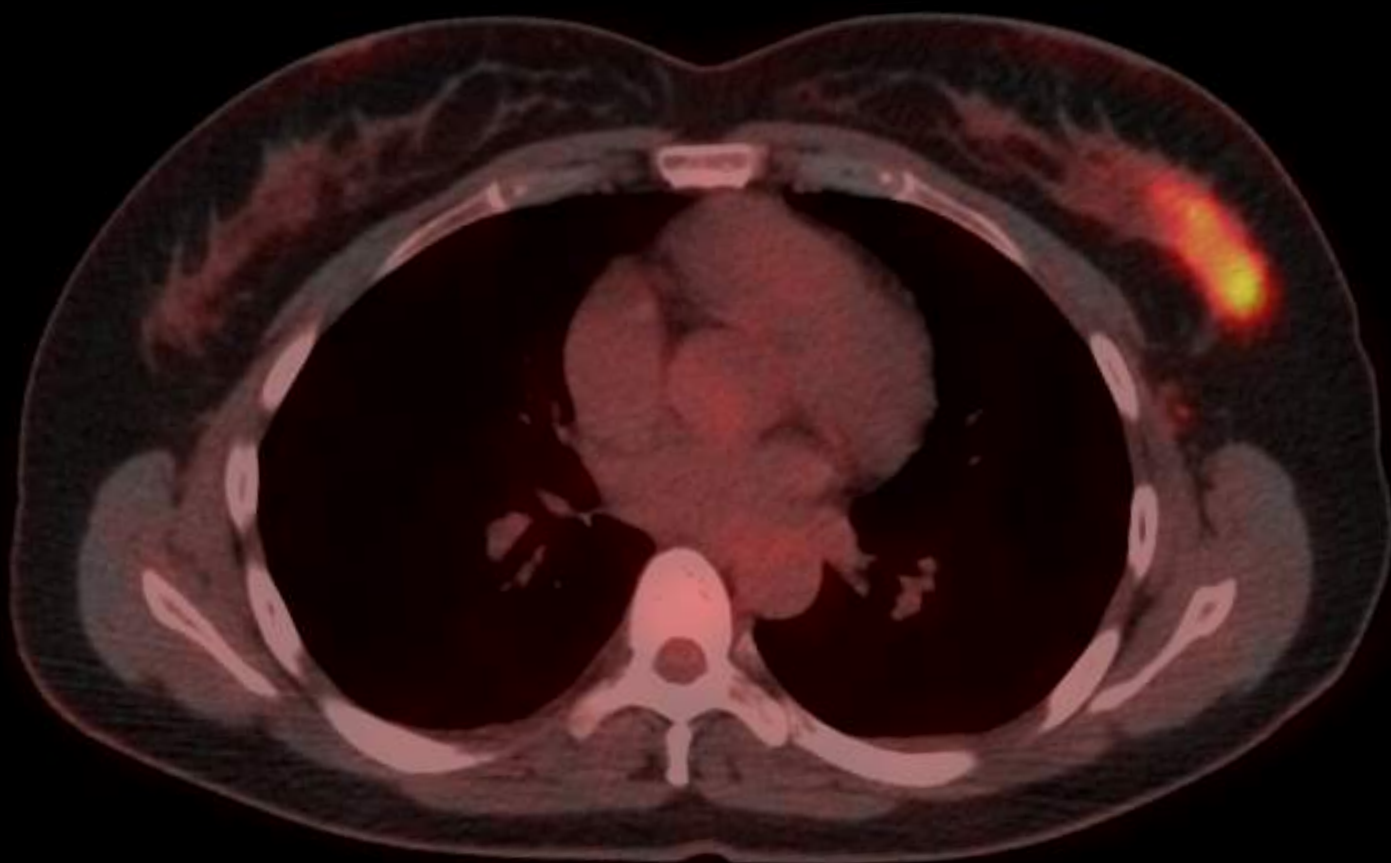


I-ISSN 2590-7379 (Electrónico)

# Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

Volumen 40, No. 2 - Junio de 2020, Bogotá, D.C., Colombia, S.A.



**Portada:** Corte axial fusionado de PET/CT (*Positron Emission Tomography/Computed Tomography*) de tórax en el que se observa una masa hipermetabólica en el cuadrante supero-lateral de la mama izquierda que correspondió a un adenocarcinoma, y pequeña adenopatía axilar del mismo lado

GE Discovery PET/CT 600, Instituto de Diagnóstico Médico, IDIME

Alejandro Martí-Samper, Instituto Nacional de Cancerología e Instituto de Diagnóstico Médico, IDIME,  
Bogotá, D.C., Colombia

# Biomédica Instituto Nacional de Salud

Volúmen 40, No. 2 - Bogotá, D.C., Colombia - Junio de 2020

## 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  
Academia Nacional de Medicina  
Bogotá, D.C., Colombia

JULIÁN ALFREDO FERNÁNDEZ-NIÑO  
Universidad del Norte  
Barranquilla, Colombia

JOSÉ MORENO-MONTOYA  
Fundación Santa Fe de Bogotá  
Bogotá, D.C., Colombia

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

ERIKA SANTAMARÍA  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

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

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

MAGDALENA WIESNER  
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 Arkansas  
Little Rock, AK, 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  
Organización Panamericana de la Salud  
Washington, D.C., Estados Unidos

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

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

LUZ ÁNGELA SALGADO  
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

Investigación en cáncer en el contexto de la pandemia de la enfermedad por SARS-CoV <i>Carolina Wiesner</i> .....	217
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

## Presentación de caso

Nefropatía <i>full house</i> no lúpica en pediatría: reporte de dos casos <i>Gustavo Adolfo Guerrero, Luis Francisco Guerrero, Tatiana González</i> .....	220
Ivermectina subcutánea en el tratamiento de un síndrome de hiperinfección por <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Diana Carolina Hennessey, Óscar Andrés Ballesteros, Diego Javier Merchán, Freddy Orlando Guevara, Diego Fernando Severiche-Bueno</i> .....	228
Angiostrongiliasis abdominal, reporte de dos casos y análisis de los casos publicados en Colombia <i>Fernando Bolaños, Leonardo F. Jurado, Rina L. Luna-Tavera, Jaime M. Jiménez</i> .....	233

## Artículo original

El estrés crónico como mediador de la relación entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico de pacientes hipertensos <i>Deivis Nicolás Guzmán-Tordecilla, Andrés Ignacio Vecino-Ortiz, Diego Lucumí, Graciela Mentz</i> .....	243
Polimorfismos de los genes del sistema leptinamelanocortina asociados con la obesidad en la población adulta de Barranquilla <i>Pilar Garavito, María Isabel Mosquera-Heredia, Luis Fang, Fausto Payares, Marta Ruiz, Isis Arias, Rafael Tuesca, Édgar Navarro, Carlos Silvera-Redondo</i> .....	257
Análisis de costo-efectividad del uso del programa VECTOS en el control rutinario de enfermedades transmitidas por <i>Aedes aegypti</i> en dos municipios de Santander, Colombia <i>Manuel Alejandro Salinas, Victoria Eugenia Soto, Sergio Iván Prada</i> .....	270
Costo-efectividad de la prueba de secuenciación del gen <i>CFTR</i> para portadores asintomáticos en la población colombiana <i>Ernesto Andrade, Jorge Díaz</i> .....	283
Efecto de las condiciones individuales, del hogar y del área de residencia en la autopercepción de su salud en adultos colombianos: un estudio multinivel <i>Beatriz Caicedo-Velásquez, María Clara Restrepo-Méndez</i> .....	296
Expresión de alfa sinucleína en sangre y su relación con el estreñimiento crónico en población residente en Bogotá, D.C. con problemas de consumo de alcohol <i>Tania Yadira Martínez-Rodríguez, Mauricio Rey-Buitrago</i> .....	309
Evolución y factores asociados con los niveles de actividad física y comportamiento sedentario en ancianos: estudio longitudinal <i>Lilane Maria Alves Silva, Darlene Mara dos Santos Tavares, Leiner Resende Rodrigues</i> .....	322
Actividad antiinflamatoria y antioxidante de los $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales en un modelo de daño por isquemia-reperusión en ratas Wistar <i>Concepción Sánchez-Martínez, Liliana Torres-González, Gabriela Alarcón-Galván, Linda E. Muñoz-Espinosa, Homero Zapata-Chavira, Diana Patricia Moreno-Peña, Homero Náñez-Terreros, Edelmiro Pérez-Rodríguez, Lourdes Garza-Ocañas, Francisco Javier Guzmán-de la Garza, Paula Cordero-Pérez</i> .....	336
Calidad de vida en mujeres con cáncer de mama sometidas a quimioterapia en Cali, Colombia <i>María Elena Mejía-Rojas, Adolfo Contreras-Rengifo, Mauricio Hernández-Carrillo</i> .....	349
Evaluación del potencial oncolítico del rotavirus en la línea celular Sp2/0-Ag14 de mieloma de ratón <i>Rafael A. Guerrero, Carlos A. Guerrero, Fanny Guzmán, Orlando Acosta</i> .....	362
Prescripción e indicaciones de uso de fluoroquinolonas en un grupo de pacientes ambulatorios de Colombia <i>Manuel Enrique Machado-Duque, Katherine Mercado-Gómez, María Camila Bernal-Chica, Stephanie Uribe-Vélez, Jorge Enrique Machado-Alba</i> ..	382
Aplicación de la teoría de la "sindemia" para entender el sexo sin protección y el sexo comercial: un estudio transversal en hombres que tienen sexo con hombres (HSH), mujeres transgénero y hombres que no tienen sexo con hombres en Colombia <i>Beatriz E. Alvarado, Héctor Fabio Mueses, Jaime Galindo, Jorge Luis Martínez-Cajas</i> .....	391

## Comunicación breve

Los patrones electroforéticos de proteínas salivales permiten diferenciar los grupos transandino y cisandino de las especies de <i>Rhodnius</i> de Colombia <i>Arlid Meneses, Cristian Camilo Rodríguez, Yazmín Suárez, Julio César Carranza, Gustavo Adolfo Vallejo</i> .....	404
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Cartas al editor.....	412
-----------------------	-----

# Contents

## Editorial

Cancer research in the SARS-CoV pandemia <i>Carolina Wiesner</i> .....	217
---------------------------------------------------------------------------	-----

## Case report

Non-lupus full house nephropathy in pediatrics: Case reports <i>Gustavo Adolfo Guerrero, Luis Francisco Guerrero, Tatiana González</i> .....	220
Subcutaneous ivermectin for the treatment of the hyperinfection syndrome by <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Diana Carolina Hennessey, Óscar Andrés Ballesteros, Diego Javier Merchán, Freddy Orlando Guevara, Diego Fernando Severiche-Bueno</i> .....	228
Abdominal angiostrongyliasis, report of two cases and analysis of published reports from Colombia <i>Fernando Bolaños, Leonardo F. Jurado, Rina L. Luna-Tavera, Jaime M. Jiménez</i> .....	233

## Original article

Chronic stress as a mediator of the relationship between socioeconomic status and pharmacological adherence in hypertensive patients <i>Deivis Nicolás Guzmán-Tordecilla, Andrés Ignacio Vecino-Ortiz, Diego Lucumí, Graciela Mentz</i> .....	243
Polymorphisms of leptin-melanocortin system genes associated with obesity in an adult population from Barranquilla <i>Pilar Garavito, María Isabel Mosquera-Heredia, Luis Fang, Fausto Payares, Marta Ruiz, Isis Arias, Rafael Tuesca, Édgar Navarro, Carlos Silvera-Redondo</i> .....	257
Cost-effectiveness analysis of VECTOS software for the control of diseases transmitted by <i>Aedes aegypti</i> in two Colombian municipalities <i>Manuel Alejandro Salinas, Victoria Eugenia Soto, Sergio Iván Prada</i> .....	270
Cost-effectiveness of the <i>CFTR</i> gene-sequencing test for asymptomatic carriers in the Colombian population <i>Ernesto Andrade, Jorge Díaz</i> .....	283
The role of individual, household, and area of residence factors on self-rated health in Colombian adults: A multilevel study <i>Beatriz Caicedo-Velásquez, María Clara Restrepo-Méndez</i> .....	296
Alpha sinuclein expression in blood and its relationship with chronic constipation in a population from Bogotá, D.C., with problems of alcohol consumption <i>Tania Yadira Martínez-Rodríguez, Mauricio Rey-Buitrago</i> .....	309
Transition and factors associated with the level of physical activity combined with sedentary behavior of the elderly: A longitudinal study <i>Lilane Maria Alves Silva, Darlene Mara dos Santos Tavares, Leiner Resende Rodrigues</i> .....	322
Anti-inflammatory and antioxidant activity of essential amino acid -ketoacid analogues against renal ischemia-reperfusion damage in Wistar rats <i>Concepción Sánchez-Martínez, Liliana Torres-González, Gabriela Alarcón-Galván, Linda E. Muñoz-Espinosa, Homero Zapata-Chavira, Diana Patricia Moreno-Peña, Homero Nájuez-Terreros, Edelmiro Pérez-Rodríguez, Lourdes Garza-Ocañas, Francisco Javier Guzmán-de la Garza, Paula Cordero-Pérez</i> .....	336
Quality of life in women treated with chemotherapy for breast cancer in Cali, Colombia <i>María Elena Mejía-Rojas, Adolfo Contreras-Rengiño, Mauricio Hernández-Carrillo</i> .....	349
Evaluación del potencial oncolítico del rotavirus en la línea celular Sp2/0-Ag14 de mieloma de ratón <i>Rafael A. Guerrero, Carlos A. Guerrero, Fanny Guzmán, Orlando Acosta</i> .....	362
Prescription and indications for the use of fluoroquinolones in a group of outpatients in Colombia <i>Manuel Enrique Machado-Duque, Katherine Mercado-Gómez, María Camila Bernal-Chica, Stephanie Uribe-Vélez, Jorge Enrique Machado-Alba</i> ..	382
Application of the “syndemics” theory to explain unprotected sex and transactional sex: A cross-sectional study in men who have sex with men (MSM), transgender women, and non-MSM in Colombia <i>Beatriz E. Alvarado, Héctor Fabio Mueses, Jaime Galindo, Jorge Luis Martínez-Cajas</i> .....	391
<b>Brief communication</b>	
Salivary proteins electrophoretic patterns enabled differentiating Colombian <i>Rhodnius</i> Trans-Andean and Cis-Andean groups. <i>Arlid Meneses, Cristian Camilo Rodríguez, Yazmin Suárez, Julio César Carranza, Gustavo Adolfo Vallejo</i> .....	404
<b>Letters to the editor</b> .....	412

## Editorial

### **Investigación en cáncer en el contexto de la pandemia de la enfermedad por SARS-CoV-2**

En diciembre de 2019, en Wuhan (China), se reportaron los primeros casos del síndrome respiratorio agudo grave (*Severe Acute Respiratory Syndrome*, SARS) causado por un coronavirus (CoV), síndrome que se denominó SARS COVID-19 (COV: coronavirus; ID: *infectious disease*). La infección por este virus que se transmite de persona a persona, se propagó rápidamente desde China a otros países y otros continentes, de manera que el 11 de marzo de 2020 la OMS declaró el estado de pandemia en la cual nos encontramos actualmente (1). En la Región de las Américas, las cifras de casos infectados hasta el 23 de mayo eran de 3.204 casos en Honduras y de 1'547.973 en los Estados Unidos, en tanto que en Brasil se registraban 310.000 casos y, en Colombia, 18.330 (2).

Al observar la variabilidad registrada en las tasas de infección y de letalidad han aparecido muchas teorías basadas en diversos aspectos, como las diferencias en la estructura poblacional de los países, las medidas nacionales y regionales tomadas por los gobiernos en los diferentes momentos de la pandemia, la capacidad y la oportunidad del reporte de los resultados de las pruebas moleculares de diagnóstico de COVID-19, las características y la organización de los sistemas de salud, el acceso a los servicios, y la prevalencia de los factores de riesgo y de enfermedades crónicas, entre otros (3,4). Ante este panorama, han surgido múltiples preguntas de investigación, clasificadas por la OMS en cerca de 90 temáticas (5) y, aunque los estudios sobre cáncer y COVID-19 no son los más numerosos (0,23 %) (5), sin lugar a dudas han ido en aumento en la medida en que los centros hospitalarios avanzan en el trabajo articulado.

En el marco de la pandemia, los pacientes con cáncer enfrentan un reto importante para acceder al diagnóstico oportuno y el tratamiento multidisciplinario y continuo en busca de su supervivencia (6). Esta situación se ha visto afectada negativamente por las medidas de distanciamiento social, la cuarentena poblacional, y la preparación de los centros hospitalarios públicos y privados para la atención de los pacientes con COVID-19 (6,7). Asimismo, ha quedado claro que un paciente con cáncer y positivo para el SARS-CoV-2 debe modificar o diferir su tratamiento oncológico hasta que la infección ceda, por lo que en algunos países se ha registrado o estimado un aumento excesivo de la mortalidad por cáncer (8-10).

En esta situación de pandemia de COVID-19, también se plantean muchas preguntas de investigación en torno al cáncer: ¿qué impacto tienen las medidas poblacionales de control de la transmisión de COVID-19 en la incidencia del cáncer, el estadio de la enfermedad en el momento del diagnóstico, la supervivencia global y el exceso de mortalidad?, ¿cuál es la

#### **Citación:**

Wiesner C. Investigación en cáncer en el contexto de la pandemia de la enfermedad por SARS-CoV-2. 2020;40:217-9.

prevalencia de la infección asintomática y de la sintomática en los pacientes con cáncer según los grupos de edad?, ¿cuál es el diagnóstico diferencial entre esta y otras infecciones concomitantes en los pacientes con cáncer sospechosos de tener COVID-19?, ¿cuáles son las particularidades de la dinámica de la infección según el tipo de cáncer y la edad?, ¿cuáles son las diferencias y los factores asociados con la propensión a la infección y su gravedad en los pacientes con cáncer?, ¿cómo se afectan los resultados clínicos al modificar los esquemas terapéuticos?

La prevalencia de la infección hospitalaria en los pacientes con neoplasia maligna ha oscilado entre 0,7 % en China y 6 a 8 % en Nueva York e Italia, en tanto que, en los niños menores de 10 años, ha sido del 1 % en Nueva York (11-14). Preocupa, además, la prevalencia de la infección asintomática en los pacientes con cáncer, reportada en 4 % (15), especialmente antes de los procedimientos quirúrgicos o inmunosupresores, dado su mayor riesgo de desarrollar comorbilidades graves, con el consecuente aumento de la mortalidad en el contexto de la COVID-19 (15,16).

En Colombia, no se ha recomendado practicar la prueba molecular de diagnóstico antes de los procedimientos quirúrgicos en los pacientes asintomáticos (17). Sin embargo, es importante evitar el daño a los pacientes con cáncer e infección por SARS-CoV-2 al iniciar un tratamiento oncológico, por el riesgo de aumentar la morbilidad o la mortalidad. La tasa de letalidad en pacientes con cáncer y COVID-19 fue de 28,6 % en China según un estudio (18) y, en otro más amplio de cohorte, fue de 13 % (16) comparado con la tasa en pacientes sin cáncer, que fue de 2,3 % (19). Es por ello que, recientemente, se han emitido recomendaciones que proponen la tamización (6,19,20). En este sentido, el Instituto Nacional de Cancerología ha iniciado la elaboración de un protocolo de estudio para resolver este aspecto.

La pandemia de COVID-19 ha planteado múltiples retos para la atención en salud, así como preguntas de investigación sobre el cáncer en el marco de una profunda transformación de la sociedad en su conjunto. Se ha generado, además, un espacio de reflexión sobre los efectos de la globalización, así como de las capacidades de los sistemas de ciencia, tecnología e innovación y de salud en Colombia. Sin duda, en este contexto se hace más explícita la necesidad de articular los dos sistemas, con el fin de fortalecer las capacidades de generar conocimientos y garantizar la disponibilidad de tecnologías acordes con las necesidades y características locales. La pandemia nos enfrenta, asimismo, al desafío del control diferencial de las enfermedades agudas en su relación con las crónicas.

Sea esta la oportunidad para hacer un reconocimiento al Instituto Nacional de Salud por el papel protagónico que ha tenido en el marco de esta pandemia. Esperamos que el Estado comience a dar respuesta a las necesidades transversales y estructurales de las instituciones de ciencia y tecnología y de prestación de servicios de salud, para garantizar el cabal cumplimiento de sus funciones y potencialidades técnicas, humanas y científicas. Este momento de crisis pone de manifiesto la necesidad imperativa de fortalecerlas con pleno reconocimiento de su valor público.

Carolina Wiesner  
Directora, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia



## Referencias

1. World Health Organization. Novel coronavirus (2019-nCoV) situation report N° 1 – 1. Geneva: World Health Organization; 2020.
2. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19). Report No. 124. Geneva: World Health Organization; 2020.
3. Manchein C, Brugnago EL, Silva RM, Mendes CF, Beims MW. Strong correlations between power-law growth of COVID-19 in four continents and the inefficiency of soft quarantine strategies. *Chaos*. 2020;30:041102. <https://doi.org/10.1063/5.0009454>
4. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19). Dashboard. Geneva: World Health Organization; 2020.
5. World Health Organization. COVID-19. Global literature on coronavirus disease. Geneva: World Health Organization; 2020.
6. Organización Panamericana de la Salud. Consideraciones para la reorganización de los servicios oncológicos durante la pandemia de COVID-19. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2020.
7. Dinmohamed AG, Visser O, Verhoeven RHA, Louwman MWJ, van Nederveen FH, Willems SM, *et al*. Fewer cancer diagnoses during the COVID-19 epidemic in the Netherlands. *Lancet Oncol*. 2020;S1470-2045(20)30265-5. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30265-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30265-5)
8. Lai A, Pasea L, Banerjee A, Denaxas S, Katsoulis M, Chang WH, *et al*. Estimating excess mortality in people with cancer and multimorbidity in the COVID-19 emergency. medRxiv. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.05.27.200832>
9. Gosain R, Abdou Y, Singh A, Rana N, Puzanov I, Ernstoff MS. COVID-19 and cancer: A comprehensive review. *Curr Oncol Rep*. 2020;22:53. <https://doi.org/10.1007/s11912-020-00934-7>
10. Managing cancer during a pandemic. *Nat Rev Clin Oncol*. 2020;17:267. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0365-3>
11. Yu J, Ouyang W, Chua MLK, Xie C. SARS-CoV-2 Transmission in patients with cancer at a tertiary care hospital in Wuhan, China. *JAMA Oncol*. 2020;e200980. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.0980>
12. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, *et al*. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5,700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area. *JAMA*. 2020;323:2052-9. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.6775>
13. Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, Antonelli M, Cabrini L, Castelli A, *et al*. Baseline characteristics and outcomes of 1,591 patients infected with SARS-CoV-2 admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA*. 2020;323:1574-81. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.5394>
14. Boulad F, Kamboj M, Bouvier N, Mauguen A, Kung AL. COVID-19 in children with cancer in New York City. *JAMA Oncol*. 2020;e202028. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.2028>
15. Kuderer NM, Choueiri TK, Shah DP, Shyr Y, Rubinstein SM, Rivera DR, *et al*. Clinical impact of COVID-19 on patients with cancer (CCC19): A cohort study. *Lancet*. 2020;S0140-6736(20)31187-9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31187-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31187-9)
16. Liang W, Guan W, Chen R, Wang W, Li J, Xu K, *et al*. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: A nationwide analysis in China. *Lancet Oncol*. 2020;21:335-7. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30096-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30096-6)
17. Instituto de Evaluación de Tecnologías, Asociación Colombiana de Infectología. Consenso colombiano de atención, diagnóstico y manejo de la infección SARS COVID-19 en establecimientos de atención en salud. Recomendaciones basadas en consenso de expertos e informadas en la evidencia. *Infectio*. 2020;4:1-153. <https://doi.org/10.22354/in.v24i3.851>
18. Zhang L, Zhu F, Xie L, Wang C, Wang J, Chen R, *et al*. Clinical characteristics of COVID-19-infected cancer patients: A retrospective case study in three hospitals within Wuhan, China. *Ann Oncol*. 2020;S0923-7534(20)36383-3. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.03.296>
19. Robert GU, Alexander K, Daniel M G. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Cancer care during the pandemic. Fecha de consulta: 28 de mayo de 2020. Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/coronavirus-disease-2019-covid-19-cancer-care-during-the-pandemic>
20. Al-Shamsi HO, Coomes EA, Alrawi S. Screening for COVID-19 in asymptomatic patients with cancer in a hospital in the United Arab Emirates. *JAMA Oncol*. 2020. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.2548>

Presentación de caso

## Nefropatía *full house* no lúpica en pediatría: reporte de dos casos

Gustavo Adolfo Guerrero<sup>1,2</sup>, Luis Francisco Guerrero<sup>2</sup>, Tatiana González<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Nefrología Pediátrica, Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja, Cartagena, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Pediatría, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

<sup>3</sup> Servicio de Reumatología Pediátrica, Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja, Cartagena, Colombia

La nefropatía *full house* se refiere a la detección simultánea de depósitos de IgA, IgG, IgM, C3 y C1q en la inmunofluorescencia, lo que generalmente indica la presencia de nefritis lúpica. Hay pacientes con este patrón de inmunofluorescencia, pero con serología negativa para autoanticuerpos, por lo que no se les puede diagnosticar un lupus eritematoso sistémico. Este tipo de nefropatía, en la que no se presentan otros criterios para lupus, se denomina nefropatía *full house* no lúpica.

En esta presentación, se describen dos casos: un paciente que ingresó con una glomerulonefritis rápidamente progresiva y una paciente con síndrome nefrótico, ambos con serología negativa para autoanticuerpos, hallazgos en la biopsia renal indicativos de nefritis lúpica de clase IV y un patrón *full house* en la inmunofluorescencia. La nefropatía *full house* no lúpica tiene rasgos histológicos similares a los de la nefritis lúpica y, probablemente, sus bases fisiopatológicas son parecidas. Sin embargo, se necesitan estudios prospectivos para conocer los factores de riesgo y el pronóstico renal, y poder hacer sugerencias sobre tratamientos específicos.

**Palabras clave:** nefritis lúpica; lupus eritematoso sistémico; enfermedades renales.

### Non-lupus full house nephropathy in pediatrics: Case reports

Full house nephropathy is defined as the simultaneous detection of IgA, IgG, IgM, C3, and C1q deposits by immunofluorescence, usually indicating lupus nephritis. There are patients with this immunofluorescence pattern, but with negative autoantibody serology, which means they cannot be diagnosed with systemic lupus erythematosus. Patients presenting with full house nephropathy but no other criteria for lupus are diagnosed as having non-lupus full house nephropathy.

Here, we describe two cases: A male patient who debuted with rapidly progressive glomerulonephritis and a female patient with nephrotic syndrome. Both had negative autoantibody serology, findings in the renal biopsy of class IV lupus nephritis and a full house immunofluorescence pattern. Histological findings in non-lupus full house nephropathy are similar to those in lupus nephritis and, probably, similar physiopathological bases. However, prospective studies are needed to determine risk factors and the renal prognosis and to make suggestions for specific treatments.

**Keywords:** Lupus nephritis; lupus erythematosus; systemic, kidney diseases.

En las biopsias renales de los pacientes con lupus eritematoso sistémico, se puede encontrar un patrón de inmunofluorescencia denominado nefropatía *full house*, la cual se refiere a la detección simultánea de depósitos de IgA, IgG, IgM, C3 y C1q (1,2). En pacientes con signos y síntomas extrarrenales de lupus eritematoso sistémico, con nefropatía *full house* en la biopsia renal y con autoanticuerpos positivos, se hace diagnóstico de nefritis lúpica.

Según los nuevos criterios de clasificación del lupus eritematoso (*The Systemic Lupus International Collaborating Clinics*, SLICC), con la única manifestación renal probada por biopsia en presencia de autoanticuerpos puede hacerse el diagnóstico de nefritis lúpica (3). Sin embargo, existen casos que presentan lesiones histopatológicas con patrón de inmunofluorescencia *full house* sin hallazgos serológicos de autoanticuerpos y sin otros signos ni síntomas extrarrenales de lupus eritematoso, por lo que dicho diagnóstico no puede hacerse (4)

En la literatura especializada se encuentran algunos informes de casos de pacientes con nefritis *full house* que en el transcurso de la enfermedad

**Recibido:** 11/12/2018  
**Aceptado:** 08/09/2019  
**Publicado:** 10/09/2019

#### Citación:

Guerrero GA, Guerrero LF, González T. Nefropatía *full house* no lúpica en pediatría: reporte de dos casos. *Biomédica*. 2020;40:220-7.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.4863>

#### Correspondencia:

Gustavo Adolfo Guerrero, Carrera 22 No 26-01, Cartagena, Colombia  
Teléfono: (300) 809 1561  
gusgueti@hotmail.com

#### Contribución de los autores:

Todos los autores participaron en la búsqueda bibliográfica, el reporte de casos clínicos, la discusión del tema y la escritura del manuscrito.

#### Financiación:

El estudio fue financiado por el Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja, Cartagena, Colombia

#### Conflicto de intereses:

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

desarrollan criterios diagnósticos de lupus eritematoso (5). Los hallazgos histológicos de pacientes con nefropatía *full house* y ninguna otra manifestación de lupus se han denominado como nefropatía *full house* no lúpica (4).

Wen, *et al.* (4), fueron los primeros en describir un grupo de 24 pacientes con nefropatía *full house* no lúpica y establecer el espectro clínico-patológico de la enfermedad. Existe un grupo de enfermedades bien establecidas que pueden manifestarse como nefropatía *full house* no lúpica, por ejemplo, diabetes mellitus, hepatopatías, glomerulopatías primarias e infecciones (4,6-9).

Se reportan dos pacientes pediátricos con nefropatía *full house* sin hallazgos serológicos asociados con lupus eritematoso, diagnosticados en un hospital pediátrico de Cartagena de Indias, Colombia.

### Caso clínico 1

Se trata de un paciente de 10 años de edad, de sexo masculino, con cuadro clínico de dos semanas de evolución consistente en edema progresivo que afectaba la región facial y las extremidades.

Una semana antes del ingreso, había presentado malestar general, hematuria macroscópica y fiebre, por lo cual fue llevado a consulta a un centro hospitalario de segundo nivel, donde se le detectó el edema de cara y extremidades inferiores, y presión arterial alta, por lo que fue hospitalizado. El paciente había presentado faringoamigdalitis un mes antes, sin otros antecedentes de importancia. Se inició el tratamiento antihipertensivo y, debido a la elevación progresiva de azoados, se le remitió a un hospital de tercer nivel de atención.

En el examen físico se registró un peso de 34,5 kg ( $z=+0,03$ ), su talla era de 150 cm ( $z=+1,20$ ), la tensión arterial controlada era de 100/70 mm Hg, y el examen físico fue normal, con excepción del leve edema facial.

En el cuadro 1 se presentan los resultados de los exámenes paraclínicos a su ingreso. Además, la detección de anticuerpos IgM e IgG para citomegalovirus, toxoplasma y virus de Epstein-Barr fue negativa. Los títulos de los anticuerpos antinucleares (ANA), anti-ADN nativo, anti-lupus, anticuerpos anti-Ro, anticuerpos anti-RNP y anticuerpos anti-SM, fueron negativos, así como los anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM y el anticoagulante lúpico a los 3,8 segundos (control: 34,2 segundos). En la ecografía renal y de vías urinarias, los riñones aparecían de tamaño normal con aumento difuso en la ecogenicidad; en el ecocardiograma, no se registraron alteraciones y la fracción de eyección fue de 77 %.

Durante la hospitalización, se evidenció un incremento progresivo y rápido de los azoados, lo que llevó a suponer la presencia de glomerulonefritis de progresión rápida por impresión clínica. Se le practicó una biopsia renal y con microscopía de luz se evidenciaron 15 glomérulos, en 13 de los cuales se observó una grave y extensa proliferación extracapilar con formación de semilunas celulares, atrofia tubular en el 25 %, cilindros hialinos y hemáticos, intersticio con infiltrado linfocitario difuso y fibrosis presente en el 25 %; las coloraciones especiales de ácido periódico de Schiff (*periodic acid-Schiff*, PAS), tricrómico y plata, evidenciaron los cambios de cronicidad. Con la inmunofluorescencia se observó un patrón *full house*.

En la microscopía electrónica, se evidenciaron dos glomérulos y se registraron depósitos intramembranosos del tipo de inmunocomplejos, pérdida de pedicelos hasta en el 80 %, presencia de proliferación celular

que ocupaba el espacio de Bowman, depósitos subendoteliales frecuentes y electrodensos del tipo de inmunocomplejos, y expansión mesangial con depósitos electrodensos del tipo de inmunocomplejos. El índice de actividad fue de 19/24 y el de la cronicidad fue de 5/12.

Con base en estos resultados, se concluyó que el paciente presentaba glomerulonefritis de progresión rápida mediada por inmunocomplejos sugestiva de una nefritis lúpica de clase IV, actividad global grave y cronicidad extensa.

El paciente evolucionó con valores de presión superiores al percentil 99, asociados con oliguria, y fue tratado con varios antihipertensivos y hemodiálisis por incremento marcado de azoados e hipercalemia. Se le administraron tres pulsos diarios de metilprednisolona y dos de ciclofosfamida con un intervalo de un mes. Los especialistas en nefrología y reumatología pediátricas decidieron continuar el tratamiento inmunosupresor oral con micofenolato de mofetilo y un corticoide (deflazacort).

Al año de seguimiento, el paciente no había tenido recaídas, su tensión era normal, su función renal estaba estable sin necesidad de diálisis. Se encontraron niveles de creatinina de 1,3 mg/dl, nitrógeno ureico de 14,9 mg/dl, C3 de 100

**Cuadro 1.** Estudios iniciales de laboratorio

	<b>Caso 1</b>	<b>Caso 2</b>
<b>Hemograma</b>		
Hemoglobina (g/dl)	7,7	15
Hematocrito (%)	22	45
Leucocitos (por mm <sup>3</sup> )	8.220	12.500
Neutrófilos (%)	57	41
Linfocitos (%)	27	52
Monocitos (%)	12	7
Plaquetas (por mm <sup>3</sup> )	325.000	410.000
<b>Pruebas renales</b>		
Nitrógeno ureico (mg/dl)	71	5,3
Creatinina (mg/dl)	5	0,85
<b>Uroanálisis</b>		
pH	5	6
Densidad	1,025	1,020
Proteínas (mg/dl)	100	300
Hemoglobina	++	++
Leucocitos (por campo)	8-10	5-10
Hematíes (por campo)	Campos llenos	Campos llenos
Proteinuria en 24 horas (mg/24 horas)	5.469	70.801
(mg/m <sup>2</sup> /hora)	190	1.891
Índice proteinuria/creatinuria	12,72	78,72
Urocultivo	Negativo	Negativo
<b>Electrolitos séricos</b>		
Sodio (mEq/L)	124	135
Potasio (mEq/L)	4,1	3,9
Cloro (mEq/L)	106	103
Calcio (mg/dl)	5,5	6,8
Magnesio (mg/dl)	1,2	1,8
Fósforo (mg/dl)	10,9	3,4
<b>Metabólico</b>		
Colesterol total (mg/dl)	250	349
HDL (mg/dl)	20	94
LDL (mg/dl)	200	222,6
Triglicéridos (mg/dl)	343	162,4
Albumina (gr/dl)	1,8	2,1
<b>Complemento sérico</b>		
C3 (VR: 90-180 mg/dl)	52,4	103,2
C4 (VR: 10-40 mg/dl)	12,5	43,9

VR: valor de referencia

mg/dl, C4 de 26 mg/dl, ANA, anti-DNA y anticuerpos frente al citoplasma de neutrófilos (ANCA) negativos, una tasa de filtración glomerular (Schwartz) de 58 ml/minuto/1,73, y proteinuria subnefrótica. El paciente continuó en tratamiento con 15 mg de deflazacort día de por medio, 500 mg de micofenolato de mofetilo cada 12 horas, y clonidina y losartán para la hipertensión.

### Caso clínico 2

Se trata de una paciente de 13 años de edad, de sexo femenino, con un cuadro clínico de un mes de evolución consistente en edema que se inició en los miembros inferiores. Fue llevada al centro de salud donde se la trató ambulatoriamente por celulitis, con antibióticos no especificados. El edema progresó hasta afectar su rostro, y presentó orina espumosa y oliguria. No presentaba antecedentes clínicos de importancia.

En el examen físico, su peso fue de 54,5 kg ( $z=+0,58$ ), la talla de 161 cm ( $z=+0,20$ ), y su tensión arterial de 120/80 mm Hg. El examen físico fue normal, excepto por el leve edema facial y el de grado II en los miembros inferiores.

Los resultados de los exámenes paraclínicos de ingreso se presentan en el cuadro 1. Se encontró proteinuria en rango nefrótico, además de dislipidemia e hipoalbuminemia, pero no había afectación ganglionar ni articular, como tampoco dolor.

Teniendo en cuenta factores de riesgo como la edad y sexo, en el diagnóstico diferencial se decidió descartar una colagenopatía, por lo que se solicitaron exámenes para detectar los niveles de anticuerpos y una biopsia renal.

Los anticuerpos contra hepatitis C y B y HIV fueron negativos; la IgG para rubéola fue de 12,5 UI/ml y la IgM de 0,9 UI/ml; para herpes I, la IgG fue de 25,48 UI/ml y la IgM de 3,7 UI/ml; para herpes II, la IgG fue de 13,5 UI/ml y la IgM de 2,3 UI/ml; el anti-ADN, el ANA y el ANCA no fueron reactivos, y en la ecografía renal y de vías urinarias se encontraron riñones de tamaño normal, con aumento difuso de la ecogenicidad y pérdida de la diferenciación corticomedular.

Se practicó una biopsia renal y, con microscopía óptica, se registraron 12 glomérulos, dos con esclerosis global y uno con esclerosis segmentaria, así como nefritis intersticial del 15 al 30 % e infiltrado mononuclear con presencia focal de eosinófilos. Se encontró: vacuolización tubular (++), proteínas de reabsorción, fibrosis intersticial del 10 % (puntaje de cronicidad: 1) y atrofia tubular menor de 5 % (puntaje de cronicidad: 0) sin vasculitis.

En la microscopía electrónica, se evaluaron dos glomérulos, uno con evidencia de esclerosis segmentaria, retracción de la membrana basal, doble contorno e interposición mesangial asociado con depósitos electrodenso con morfología de complejos inmunitarios de localización subendotelial e intramembranosos, así como mesangio con depósito de complejos inmunitarios, sin proliferación celular ni otros depósitos.

Se concluyó que la paciente presentaba una nefropatía mediada por complejos inmunitarios, de patrón membranoproliferativo y hallazgos indicativos de nefritis lúpica de clase IV. Los especialistas en nefrología y reumatología pediátricas consideraron que cursaba con un síndrome nefrótico secundario a nefropatía *full house* no lúpica, sin compromiso de ningún otro sistema orgánico, excepto el renal, y sin autoanticuerpos.

Se inició tratamiento con prednisona con mejoría clínica y disminución del edema. La paciente tuvo una recaída con proteinuria de 41.910 mg/24 horas y se le administraron tres pulsos de metilprednisona. Durante el seguimiento, persistió el edema de miembros inferiores con hipoalbuminemia y proteinuria en rango nefrótico, por lo que se le administró un pulso de ciclofosfamida al mes durante seis meses, con lo cual se obtuvo mejoría parcial, con evolución favorable de los edemas y albúmina normal; no obstante, la proteinuria persistió en rango nefrótico, así como la hipercolesterolemia, por lo que se inició tratamiento con micofenolato mofetilo.

Al año de seguimiento, la paciente tenía tensión normal, no había presentado recaídas, la proteinuria era subnefrótica y conservaba la función renal.

### **Consideraciones éticas**

Se siguieron las normas éticas para la investigación en seres humanos contenidas en la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia y se mantuvo la confidencialidad de la información de los pacientes.

### **Discusión**

Se reportan dos casos: un niño con glomerulonefritis de progresión rápida y con antecedente de infección, a quien se le practicó una biopsia renal que evidenció un patrón histológico concordante con glomerulonefritis proliferativa difusa y semilunas celulares en más del 50 %, y una niña con síndrome nefrótico y biopsia indicativa de nefritis lúpica de clase IV. Los dos pacientes presentaban un patrón *full house* de inmunofluorescencia. Los casos se diagnosticaron como nefropatía *full house* no lúpica y en ambos se administró tratamiento de inmunosupresión.

El término de nefropatía *full house* no lúpica se ha utilizado para describir a un grupo de pacientes que presentan un patrón de inmunofluorescencia *full house* con serología negativa para autoanticuerpos y sin ningún otro criterio de lupus (4).

Wen, *et al.*, describieron una serie de 24 pacientes con diagnóstico histopatológico de nefropatía membranosa (46 %), nefropatía por IgA (21 %), glomerulonefritis membranoproliferativa (12,5 %), glomerulonefritis posinfecciosa (12,5 %), nefropatía C1q (4 %) y mesangial no clasificable (4 %). Después de un seguimiento promedio de 24 meses, solo dos pacientes desarrollaron lupus eritematoso (4). Por su parte, Martín, *et al.*, reportaron su experiencia en dos centros hospitalarios de Medellín (Colombia) y describieron la historia clínica de 20 pacientes, 12 adultos y 8 niños. Durante el seguimiento de  $40,9 \pm 24,8$  meses, dos pacientes presentaron anticuerpos antinucleares, por lo que los autores concluyeron que en el seguimiento siempre se debe estar atento al desarrollo de lupus eritematoso (10).

Rijnink, *et al.*, informaron 32 pacientes con nefropatía *full house* no lúpica y un seguimiento promedio de 20 años, durante el cual ninguno desarrolló lupus eritematoso. De estos pacientes, 20 tenían nefropatía *full house* no lúpica idiopática y, 12, nefropatía *full house* no lúpica secundaria. Los primeros presentaron menos hematuria, más proteinuria en rango nefrótico y menos consumo del complemento en la vía clásica que aquellos con lupus. Además, mediante un análisis de regresión multivariable, los autores encontraron que los afectados por la nefropatía *full house* no lúpica con patrón de lesión proliferativa progresaron más rápidamente a enfermedad renal terminal que los pacientes con lupus (11).

La combinación de una fisiopatología similar y el mal pronóstico renal de algunos pacientes con nefropatía *full house* no lúpica (4,7,9,11), lleva a pensar en la posibilidad de que tengan formas graves de otras enfermedades caracterizadas por una importante activación del sistema inmunológico.

En uno de los casos aquí reportados, el paciente había sufrido faringoamigdalitis un mes antes de presentar el cuadro clínico, por lo cual se consideró la glomerulonefritis posinfecciosa entre los diagnósticos diferenciales y, con base en los estudios practicados, no se descartó como posible desencadenante de la glomerulonefritis de progresión rápida mediada por una enfermedad de complejos inmunitarios. Dos de los 32 pacientes reportados por Rijnink, *et al.*, presentaban glomerulonefritis relacionada con una infección (11). En la serie de Wen, *et al.*, el diagnóstico final de tres de los pacientes fue de glomerulonefritis posinfecciosa (4).

En el estudio retrospectivo más grande de pacientes pediátricos publicado hasta el momento, Ruggiero, *et al.*, reportaron 42 niños y adolescentes en cinco centros de nefrología de Italia describiendo los esquemas terapéuticos utilizados y los resultados obtenidos. Los autores encontraron que, en la inducción, las niñas recibieron una dosis acumulativa de ciclofosfamida más alta que los niños. Además, los niños en etapa prepuberal recibieron dosis de esteroides diarios más altas que los demás púberes. Durante la fase de mantenimiento, no hubo diferencias entre niños y niñas. A los 10 años, la probabilidad de desarrollar enfermedad renal crónica fue de 4,8 % y las recurrencias se dieron solamente en los primeros cuatro años después del diagnóstico, lo que permitió la suspensión progresiva de la inmunosupresión en aquellos pacientes que lograron la remisión (12).

En el primer caso aquí reportado, se eligió la opción del tratamiento inmunosupresor por el deterioro progresivo de la función renal, con un esquema de corticoides y ciclofosfamida (2 pulsos) y luego micofenolato de mofetilo oral. El tratamiento de la segunda paciente se inició con esteroides y, debido a la resistencia observada, se optó por la administración de ciclofosfamida endovenosa mensual, que solo después de seis pulsos logró una mejoría parcial, a partir de lo cual se inició el tratamiento con micofenolato de mofetilo.

Los estudios evidencian que son pocos los pacientes que presentan serología positiva para lupus eritematoso durante el seguimiento, sin embargo, existe el riesgo. Por ejemplo, en el estudio de Wen, *et al.*, de 24 pacientes, solo dos tuvieron resultado positivo para ANA (4); Martín, *et al.*, también reportaron dos pacientes de los 20 analizados (10), en tanto que en el estudio de Rijnink, *et al.*, ninguno de los 32 pacientes analizados presentó positividad (11). Nuestra hipótesis frente a esta baja seroconversión es que, con el uso de inmunosupresores, se puede inhibir la formación de autoanticuerpos y evitar el desarrollo del lupus eritematoso.

Entre las pruebas diagnósticas que podrían ayudar a diferenciar la nefropatía *full house* no lúpica de la lúpica, están las inclusiones túbulo-reticulares con la microscopía electrónica (13) y la presencia de depósitos inmunes en la inmunofluorescencia de piel (14). Dichas inclusiones son muy sugestivas de nefritis lúpica y son raras en otras enfermedades renales. Por lo tanto, la combinación de criterios clínicos, la inmunofluorescencia de piel y la biopsia renal con microscopía electrónica puede ayudar a determinar las formas que evolucionan a lupus eritematoso sistémico (12).

No hay estudios que establezcan el tratamiento apropiado para la nefropatía *full house* no lúpica ni recomendaciones para el manejo de estos pacientes. Sin embargo, muchos médicos han notado el riesgo de progresión hacia el lupus, por lo que recomiendan un tratamiento con inmunosupresores similar al propuesto para la nefritis lúpica con lesiones histológicas graves (7,15).

En un estudio observacional, Ruggiero, *et al.*, informaron que los esquemas terapéuticos agresivos de inducción lograron una remisión sostenida en todos los casos de nefropatía *full house* (16). La opción del tratamiento inmunosupresor agresivo en los pacientes con nefropatía *full house* no lúpica, se basa en el curso progresivo y el mal pronóstico de los casos no tratados. Además, los pacientes tratados que no desarrollan lupus eritematoso sistémico parecen tener un mejor pronóstico que quienes sí lo desarrollan (12).

Los pacientes aquí presentados llevan más de un año de seguimiento y su función renal ha sido estable y están en remisión. Además, en el caso 1, se logró suspender la terapia de sustitución renal al mes de iniciado el tratamiento inmunosupresor y, hasta la fecha, la serología para autoanticuerpos sigue siendo negativa en ambos pacientes.

### Conclusión

En la actualidad, no se puede afirmar que la nefropatía *full house* no lúpica haga parte de las manifestaciones histológicas iniciales del lupus eritematoso sistémico ni hay evidencia de que lo sea de alguna otra condición clínica específica. En la nefropatía *full house* no lúpica, los hallazgos histológicos son similares a los de la nefritis lúpica y, probablemente, sus bases fisiopatológicas sean parecidas. Sin embargo, se requieren estudios prospectivos en adultos y niños para determinar los factores de riesgo y los resultados renales para poder recomendar pautas de tratamientos con inmunosupresores específicos.

### Referencias

1. Cameron JS. Lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol.* 1999;10:413-24.
2. Gianviti A, Barsotti P, Barbera V. Delayed onset of systemic lupus erythematosus in patients with full-house nephropathy. *Pediatr Nephrol.* 1999;683-7. <https://doi.org/10.1007/s004670050681>
3. Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, *et al.* Derivation and validation of the systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64:2677-86. <https://doi.org/10.1002/art.34473>
4. Wen YK, Chen ML. Clinicopathological study of originally non-lupus "full-house" nephropathy. *Ren Fail.* 2010;32:1025-30. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2010.510614>
5. Giannakakis K, Faraggiana T. Histopathology of lupus nephritis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2011;40:170-80. <https://doi.org/10.1007/s12016-010-8207-1>
6. Smet AD, Kuypers D, Evenepoel P, Maes B, Messiaen T, Damme BV, *et al.* "Full house" positive immunohistochemical membranoproliferative glomerulonephritis in a patient with portosystemic shunt. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:2258-62. <https://doi.org/10.1093/ndt/16.11.2258>
7. Sharman A, Furness P, Feehally J. Distinguishing C1q nephropathy from lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant.* 2004;19:1420-6. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfh139>
8. Baskin E, Agras PI, Menekse N, Ozdemir H, Cengiz N. Full-house nephropathy in a patient with negative serology for lupus. *Rheumatol Int.* 2007;27:281-4. <https://doi.org/10.1007/s00296-006-0198-0>
9. Lai FM, To KF, Wang AY, Choi PC, Szeto CC, Li PK, *et al.* Hepatitis B virus-related nephropathy and lupus nephritis: Morphologic similarities of two clinical entities. *Mod Pathol.* 2000;13:166-72. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3880031>
10. Martín ML, Muñoz C, Eraso R, Velásquez MP, Arias LF. Nefropatía "full house" no lúpica, aspectos clínicos e histológicos. Experiencia en dos centros hospitalarios de Medellín, Colombia. *Revista Colombiana de Reumatología.* 2012;19:124-30.



11. Rijnink EC, Teng YK, Kraaij T, Wolterbeek R, Bruijn JA, Bajema IM. Idiopathic non-lupus full-house nephropathy is associated with poor renal outcome. *Nephrol Dial Transplant*. 2017;32:654-62. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfx020>
12. Ruggiero B, Vivarelli M, Gianviti A, Pecoraro C, Peruzzi L, Benetti E, *et al*. Outcome of childhood-onset full-house nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2017;32:1194-204. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfw230>
13. L'Erario I, Frezzolini A, Ruggiero B, De Pità O, Emma F, Gianviti A. Usefulness of skin immunofluorescence for distinguishing SLE from SLE-like renal lesions: A pilot study. *Pediatr Nephrol*. 2011;26:77-83. <https://doi.org/10.1007/s00467-010-1655-2>
14. Huerta A, Bomback AS, Liakopoulos V, Palanisamy A, Stokes MB, D'Agati VD, *et al*. Renal-limited "lupus-like" nephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27:2337-42. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr663>
15. Simmons SC, Smith ML, Chang-Miller A, Keddiss MT. Antinuclear antibody-negative lupus nephritis with full house nephropathy: A case report and review of the literature. *Am J Nephrol*. 2015;42:451-9. <https://doi.org/10.1159/000443747>
16. Ruggiero B, Vivarelli M, Gianviti A, Benetti E, Peruzzi L, Barbano G, *et al*. Lupus nephritis in children and adolescents: Results of the Italian Collaborative Study. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28:1487-96. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfs589>

## Presentación de caso

# Ivermectina subcutánea en el tratamiento de un síndrome de hiperinfección por *Strongyloides stercoralis*

Diana Carolina Hennessey<sup>1</sup>, Óscar Andrés Ballesteros<sup>2</sup>, Diego Javier Merchán<sup>2</sup>, Freddy Orlando Guevara<sup>3</sup>, Diego Fernando Severiche-Bueno<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Interna, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Crítica y Cuidado Intensivo, Universidad del Rosario, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Servicio de Infectología, Fundación Santafé de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Departamento de Medicina Interna, Universidad de La Sabana, Chía, Colombia

La estrogiloidiasis es una enfermedad causada por el nematodo *Strongyloides stercoralis*, endémico en las regiones rurales de los países tropicales y subtropicales. Los pacientes inmunosuprimidos tienen un mayor riesgo de infección con este parásito y pueden terminar desarrollando un síndrome de hiperinfección que conlleva un alto riesgo de muerte. En el tratamiento se utiliza la ivermectina, pero, ni en Colombia ni en el mundo, existe una presentación parenteral del medicamento para uso en humanos, lo cual es un problema en aquellos pacientes que puedan tener comprometida la absorción intestinal, como es el caso de aquellos con obstrucciones intestinales.

Se reporta el caso de un síndrome de hiperinfección por *S. stercoralis* en Colombia tratado con ivermectina subcutánea; la idea al presentarlo es incentivar los estudios de farmacocinética y farmacodinamia que analicen esta vía de administración como alternativa para el tratamiento de pacientes con riesgo de fracaso terapéutico con la vía oral.

**Palabras clave:** estrogiloidiasis/tratamiento farmacológico; ivermectina; inyecciones subcutáneas; obstrucción intestinal; inmunosupresión.

## Subcutaneous ivermectin for the treatment of the hyperinfection syndrome by *Strongyloides stercoralis*

Strongyloidiasis is a disease caused by the nematode *Strongyloides stercoralis* that is endemic in rural regions in tropical and subtropical countries. Immunosuppressed patients have an increased risk of infection by this parasite and are at risk of developing a hyperinfection syndrome which involves a higher risk of death. The syndrome is treated with ivermectin, however, there is no parenteral presentation of this medication for human use in Colombia or the world, which is an important problem in patients who have compromised enteral absorption, for instance, those with intestinal obstructions.

We present a case of hyperinfection syndrome by *Strongyloides stercoralis* in Colombia, which was treated with subcutaneous ivermectin. Our purpose is to encourage pharmacokinetic and pharmacodynamic studies to establish this route of administration in the future as an alternative for those patients who have a high risk of therapeutic failure with the oral route.

**Keywords:** Strongyloidiasis/drug therapy; ivermectin; subcutaneous injection; intestinal obstruction, immunosuppression.

Los pacientes inmunosuprimidos tienen un mayor riesgo de infección por gérmenes comunes y oportunistas, así como de infestaciones parasitarias. Una de ellas es la estrogiloidiasis que, en este grupo de pacientes, puede desembocar en un síndrome de hiperinfección (1,2).

Los pacientes que desarrollan el síndrome de hiperinfección tienen un alto riesgo de muerte y, por ello, la *Infectious Diseases Society of America* (IDSA), la *American Society of Transplantation* (AST) y los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) recomiendan descartar la infestación por *Strongyloides* sp. en pacientes de áreas endémicas con síntomas gastrointestinales o eosinofilia y en lista de espera para trasplante de órgano sólido o de médula ósea, ya sea mediante la determinación de IgG por ELISA o, en caso de que la prueba no esté disponible, con un estudio parasitológico de materia fecal (3). Debido al curso potencialmente fatal de la enfermedad, una vez se confirma el diagnóstico, el tratamiento de primera línea se hace con ivermectina (4).

**Recibido:** 20/08/2019

**Aceptado:** 19/01/2020

**Publicado:** 22/01/2020

### Citación:

Hennessey DC, Ballesteros ÓA, Merchán DJ, Guevara FO, Severiche-Bueno DF. Ivermectina subcutánea en el tratamiento de un síndrome de hiperinfección por *Strongyloides stercoralis*. Reporte de un caso. *Biomédica*. 2020;40:228-32. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5140>

### Correspondencia:

Diego Fernando Severiche-Bueno, Carrera 16 No 82-29, CS 505, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (313) 460 4498  
diegosebu@unisabana.edu.co

### Contribución de los autores:

Todos los autores contribuyeron en la recopilación de la información relevante, la continuidad histórica del manuscrito, el análisis de los datos clínicos y los resultados de laboratorio, la búsqueda bibliográfica ampliada y la actualización del concepto médico de la enfermedad.

### Financiación:

No se recibieron recursos económicos para esta publicación.

### Conflicto de intereses:

Ninguno

Sin embargo, no hay presentaciones parenterales con licencia para el uso de este medicamento en humanos, lo cual constituye un problema para aquellos que cursen con obstrucción intestinal, pues esta disminuye la absorción intestinal de la ivermectina.

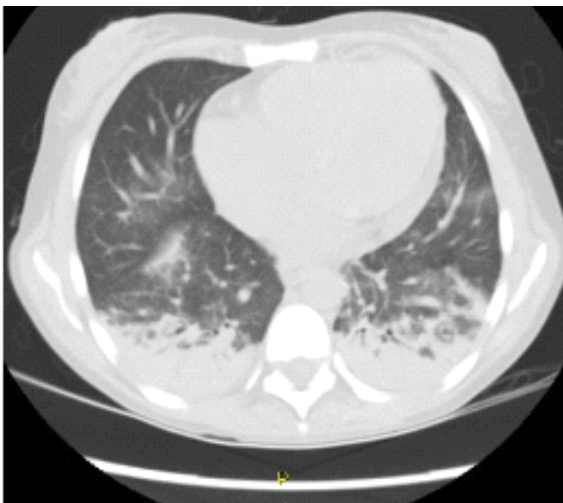
A continuación, se presenta el caso de una mujer colombiana con trasplante renal que presentó un síndrome de hiperinfección y obstrucción parcial del intestino delgado. Debido al riesgo de falla terapéutica, y con su consentimiento, la paciente fue tratada con una preparación veterinaria de ivermectina, con lo cual se logró la cura de la infestación. Hasta donde se sabe por los reportes revisados, este es el primer caso documentado en Colombia y el número 24 a nivel mundial.

### Caso clínico

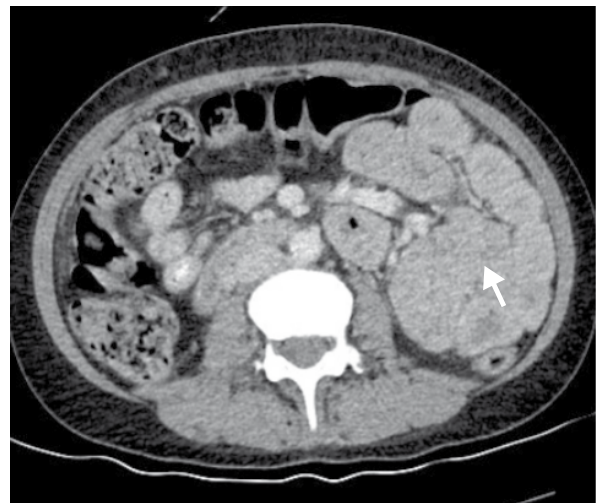
Se trata de una mujer de 31 años de edad con trasplante renal, bajo tratamiento con tacrolimus, prednisolona y micofenolato de mofetilo que consultó por un cuadro clínico de siete días de evolución consistente en dolor en epigastrio asociado con episodios eméticos, tos con expectoración purulenta y disnea. En el momento del ingreso, la paciente se encontraba en regular estado general con taquicardia, taquipnea y desaturación de oxígeno al medio ambiente.

En los exámenes de laboratorio de ingreso, se evidenció hipoxemia moderada y, en la radiografía de tórax, opacidades en el lóbulo inferior izquierdo, por lo que se tomó una tomografía computarizada de tórax en la que se observó consolidaciones en ambos lóbulos inferiores (figura 1). Con base en estos resultados, se consideró como diagnóstico una neumonía bilateral y se inició la administración de piperacilina y tazobactam. Además, dado que persistía el dolor abdominal, se practicó una tomografía de abdomen que evidenció cambios en el íleon distal indicativos de una obstrucción intestinal parcial (figura 2).

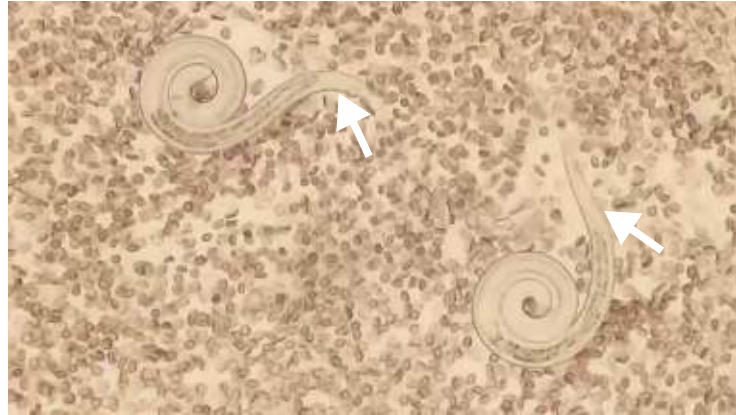
La paciente presentó deterioro respiratorio asociado con hemoptisis, por lo que requirió intubación orotraqueal. Debido a la hemoptisis, se hizo una fibrobroncoscopia y, en el lavado broncoalveolar, se encontraron larvas de *Strongyloides* sp.; no hubo otros hallazgos (figura 3).



**Figura 1.** Tomografía computarizada de tórax: áreas de consolidación y atelectasias en ambos lóbulos inferiores



**Figura 2.** Tomografía computarizada de abdomen: dilatación del íleon distal, con engrosamiento de las paredes y signo de "fecalización" del contenido intraluminal (*small-bowel feces sign*), indicativos de posible obstrucción intestinal parcial



**Figura 3.** Extendido del lavado broncoalveolar: dos larvas correspondientes a *Strongyloides stercoralis*

Dado que se trataba de una paciente inmunosuprimida, se le diagnosticó síndrome de hiperinfección por *S. stercoralis* y se inició la administración de ivermectina y albendazol por la sonda nasogástrica. Ante el riesgo de que el tratamiento fallara debido a la obstrucción intestinal, en junta médica multidisciplinaria y con el consentimiento previo de la paciente y su familia, se decidió administrarle ivermectina subcutánea en presentación para ganado vacuno, en dosis de 1,2 ml (12.000 µg o 12 mg) por vía subcutánea cada 48 horas, para un total de tres dosis. Con este tratamiento, la paciente tuvo una adecuada evolución, el síndrome de hiperinfección remitió y se le dio el egreso.

### **Consideraciones éticas**

Se obtuvo la aprobación y la autorización de la paciente para publicar su caso.

### **Discusión**

La estrogiloidiasis es una enfermedad causada por el nemátodo *S. stercoralis* que es endémico en las regiones rurales de los países tropicales y subtropicales (5). Se desconoce su prevalencia, pero se estima que afecta entre el 10 y el 40 % de la población mundial, llegando a alcanzar hasta el 60 % en poblaciones de bajo nivel socioeconómico, en especial, aquellas que se dedican a la agricultura (6). Según el estudio de Puthiyakunnon, *et al.* (7), los países con mayor prevalencia son Namibia, Papúa Nueva Guinea, Gabón y Kenia. En cuanto a Latinoamérica, según el estudio de Buonfrate, *et al.* (8), la prevalencia en Chile, Bolivia, Colombia y México es del 5 % y, en Argentina, Ecuador y Venezuela, del 20 %.

Entre los factores de riesgo para la hiperinfección o enfermedad diseminada, se encuentran la inmunosupresión debida a medicamentos como los corticoides, las neoplasias hematológicas y el trasplante de órgano sólido o de médula ósea (9). En estos pacientes, la infección puede avanzar y favorecer la migración de las larvas infectivas, alcanzando una mortalidad del 100 % (10).

El tratamiento de la hiperinfestación por *Strongyloides* sp. se basa en la administración de antihelmínticos, principalmente la ivermectina, sin olvidar otras opciones como el tiabendazol o el albendazol (11,12). En Colombia y en el mundo, sin embargo, no hay ivermectina en presentación parenteral para su uso en humanos, lo que constituye un problema en aquellos pacientes con compromiso de la absorción entérica debido, por ejemplo, a una obstrucción intestinal (13).

En el 2000, se publicó el primer reporte de caso a nivel mundial en el que se empleó ivermectina subcutánea en un paciente de 39 años con linfoma asociado con el HTLV-1 y con diagnóstico de hiperinfección por *Strongyloides* sp., quien recibió varias dosis de 12 mg y logró la cura microbiológica (14).

A partir del año 2000, se han publicado, al menos, 23 casos alrededor del mundo sin que hasta la fecha haya guías de manejo o una posición clara de las sociedades científicas. Según el artículo de Barret, *et al.* (13), las dosis diarias usadas en los reportes de casos hasta la fecha han oscilado entre 75 y 285 µg/kg (6 a 22 mg por dosis) y entre tres y 11 dosis. En 13 de los 23 casos reportados, los pacientes sobrevivieron y alcanzaron la cura microbiológica, siete alcanzaron la cura microbiológica, aunque murieron de complicaciones durante la hospitalización, y tres murieron durante el tratamiento (13,15).

Aunque las dosis diarias han variado, en la mayoría de los casos se usó una de 200 µg/kg, es decir, la máxima de la presentación oral (13,15). No obstante, no hay estudios de farmacocinética o farmacodinámica en humanos (13,15) que ayuden a determinar el comportamiento de la ivermectina administrada por vía subcutánea y a establecer la frecuencia de su administración, la dosis máxima tolerada y la dosis segura en humanos, entre otros datos relevantes.

### Conclusión

Este caso, el primero descrito en Colombia, debe incentivar el estudio de la farmacocinética y la farmacodinámica de la ivermectina administrada por vía subcutánea, como un primer paso para establecer esta vía de administración en el futuro y ofrecer una alternativa de tratamiento para aquellos pacientes que tienen gran riesgo de fracaso terapéutico con la vía oral.

### Referencias

1. Kassalik M, Mönkemüller K. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection syndrome and disseminated disease. *Gastroenterol Hepatol.* 2011;7:766-8.
2. Greaves D, Coggle S, Pollard C, Aliyu SH, Moore EM. *Strongyloides stercoralis* infection. *BMJ.* 2013;347:f4610. <https://doi.org/10.1136/bmj.f4610>
3. Roxby AC, Gottlieb GS, Limaye AP. Strongyloidiasis in transplant patients. *Clin Infect Dis.* 2009;49:1411-23. <https://doi.org/10.1086/630201>
4. Marcos LA, Terashima A, Dupont HL, Gotuzzo E. *Strongyloides* hyperinfection syndrome: An emerging global infectious disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008;102:314-8. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.01.020>
5. Hernández-Chavarría F. *Strongyloides stercoralis*: un parásito subestimado. *Parasitol Día.* 2001;25:40-9. <https://doi.org/10.4067/S0716-07202001000100008>
6. Schär F, Trostorf U, Giardina F, Khieu V, Muth S, Marti H, *et al.* *Strongyloides stercoralis*: Global distribution and risk factors. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7:e2288. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002288>
7. Puthiyakunnon S, Boddu S, Li Y, Zhou X, Wang C, Li J, *et al.* Strongyloidiasis—an insight into its global prevalence and management. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8:e3018. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003018>
8. Buonfrate D, Mena MA, Angheben A, Requena-Méndez A, Muñoz J, Gobbi F, *et al.* Prevalence of strongyloidiasis in Latin America: A systematic review of the literature. *Epidemiol Infect.* 2015;143:452-60. <https://doi.org/10.1017/S0950268814001563>
9. Center for Disease Control and Prevention. Strongyloidiasis. Fecha de consulta: 20 de febrero de 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/parasites/strongyloides/index.html>
10. Llagunes J, Mateo E, Peña JJ, Carmona P, Andrés J. Hiperinfección por *Strongyloides stercoralis*. *Med Intensiva.* 2010;34:353-6. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2009.06.006>

11. Lim S, Katz K, Kraiden S, Fuksa M, Keystone JS, Kain KC. Complicated and fatal *Strongyloides* infection in Canadians: Risk factors, diagnosis and management. CMAJ. 2004;171:479-84. <https://doi.org/10.1503/cmaj.1031698>
12. Segarra-Newnham M. Manifestations, diagnosis, and treatment of *Strongyloides stercoralis* infection. Ann Pharmacother. 2007;41:1992-2001. <https://doi.org/10.1345/aph.1K302>
13. Barrett J, Broderick C, Soulsby H, Wade P, Newsholme W. Subcutaneous ivermectin use in the treatment of severe *Strongyloides stercoralis* infection: Two case reports and a discussion of the literature. J Antimicrob Chemother. 2016;71:220-5. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv315>
14. Chiodini PL, Reid AJ, Wiselka MJ, Firmin R, Foweraker J. Parenteral ivermectin in *Strongyloides* hyperinfection. Lancet. 2000;355:43-4 [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(99\)02744-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(99)02744-0)
15. Zeidler K, Jariwala R, Restrepo-Jaramillo R, Kapadia S, Casanas B, Sriaroon C, *et al.* Successful use of subcutaneous ivermectin for the treatment of *Strongyloides stercoralis* hyperinfection in the setting of small bowel obstruction and paralytic ileus in the immunocompromised population. BMJ Case Rep. 2018;2018:bcr-2017-223138. <https://doi.org/10.1136/bcr-2017-223138>



Case report

## Abdominal angiostrongyliasis, report of two cases and analysis of published reports from Colombia

Fernando Bolaños<sup>1,2</sup>, Leonardo F. Jurado<sup>3,4,5</sup>, Rina L. Luna-Tavera<sup>1</sup>, Jaime M. Jiménez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Patología, Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo, Neiva, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Patología, Hospital Universitario Departamental de Nariño, Pasto, Colombia

<sup>3</sup> Departamento de Patología y Laboratorios, Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>5</sup> Facultad de Medicina, Fundación Universitaria Sanitas, Bogotá, D.C., Colombia

Abdominal angiostrongyliasis is a parasitic zoonosis, endemic in the American continent. Its etiological agent is *Angiostrongylus costaricensis*, a nematode whose definitive hosts are rats and other rodents and the intermediate hosts, slugs. Mammals acquire the infection by consuming vegetables contaminated with L<sub>3</sub> larvae. The disease shows a heterogeneous clinical spectrum and given its low incidence its diagnosis is a great challenge.

In Colombia, the first case was reported in 1979 and until 1998, only five additional cases have been reported. However, in the last two decades, no new cases were reported. Here we discuss two cases of children from Huila and Caquetá departments who developed the disease. Both cases required long in-patient care and multiple surgical interventions. The diagnosis was achieved by histopathological observation of parasitic elements inside the mesenteric arteries. One of the children died while the other fully recovered.

We discuss the epidemiology, pathogenic cycle, clinical presentation, diagnosis, and prevention strategies of this disease paying particular attention to our patients' features and the Colombian context.

**Keywords:** *Angiostrongylus*; *Strongylida* infections/diagnosis; case reports; Colombia.

### Angiostrongiliasis abdominal, reporte de dos casos y análisis de los casos publicados en Colombia

La angiostrongiloidiasis abdominal es una zoonosis parasitaria endémica en el continente americano. Su agente etiológico es el nematodo *Angiostrongylus costaricensis*, cuyos huéspedes definitivos son los roedores y, los intermediarios, los caracoles y las babosas, por lo que se adquiere al consumir vegetales contaminados con larvas en estadio 3. La presentación clínica es muy variada y, dada su rareza, su diagnóstico es un desafío.

En Colombia el primer caso se reportó en 1979 y, desde entonces hasta 1998, se han informado cinco casos más, aunque en las últimas dos décadas no se había reportado ningún caso. Se describen aquí dos casos de angiostrongiloidiasis en niños provenientes de los departamentos de Huila y Caquetá que requirieron una larga hospitalización y múltiples intervenciones quirúrgicas. El diagnóstico se logró al observar en los especímenes quirúrgicos larvas and huevos cuya morfología sugería una infección por nematodos; uno de los pacientes murió y el otro se recuperó satisfactoriamente.

Se discuten la epidemiología, la patogenia, la presentación clínica, el diagnóstico y las estrategias de prevención de esta parasitosis, con énfasis en las características particulares de los casos descritos y en el contexto colombiano.

**Palabras clave:** *Angiostrongylus*; infecciones por *Strongylida*/diagnóstico; informes de casos; Colombia.

Human angiostrongyliasis is a parasitic and zoonotic disease caused by the nematode species *Angiostrongylus costaricensis* and *A. cantonensis*, which belong to the Metastrongylidae family (Leiper, 1908) (1). *Angiostrongylus costaricensis*, which produces abdominal disease, was described by Morera and Céspedes in Costa Rica in 1952 (2,3). *Angiostrongylus cantonensis*, which causes eosinophilic meningoencephalitis, was reported infecting the pulmonary arteries and hearts of domestic rats in Guangzhou (Canton), China, by Chen in 1935 (4). In both cases, rats are the main definitive hosts and snails are the intermediate hosts (1,3).

**Received:** 27/05/2019

**Accepted:** 19/01/2020

**Published:** 10/03/2020

**Citation:**

Bolaños F, Jurado LF, Luna-Tavera RL, Jiménez JM. Abdominal angiostrongyliasis, report of two cases and analysis of published reports from Colombia. Biomédica. 2020;40:233-42. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5043>

**Corresponding author:**

Leonardo F. Jurado, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 N° 45-03, edificio 471, piso 3, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (312) 873 7570  
lfjuradoz@unal.edu.co

**Author contributions:**

Fernando Bolaños, Rina L. Luna-Tavera, and Jaime M. Jiménez conducted the pathological diagnosis and follow up. Leonardo F. Jurado performed the clinical analysis, the literature revision, and the drafting of the manuscript. All the authors reviewed and approved the final version.

**Funding:**

Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo, Neiva, Colombia

**Conflicts of interest:**

The authors declare no conflicts of interest.

To date, 18 species of *Angiostrongylus* have been identified around the world (5). Their taxonomic classification relies on the morphological characteristics of the rays of the copulatory bursa, its host group specificity, and the organ where the adult worms are located while infecting the host (5,6).

*Angiostrongylus costaricensis*, endemic in South America and the Caribbean, is responsible for a pathologic abdominal syndrome characterized by the presence of the nematode and its eggs inside the mesenteric arteries (2). Histologically it is characterized by eosinophilic infiltration, vascular abnormality, and granulomatous reaction (7). Morera and Céspedes in Costa Rica first reported this condition in 1952, and in 1971 they described the parasite using surgical specimens obtained from a patient who had an appendicitis-like clinical syndrome (8). The current natural distribution of this parasite ranges from the southern United States to northern Argentina (9) and human cases have been reported in Brazil, Colombia, Costa Rica, Dominican Republic, El Salvador, France, Guadalupe, Honduras, Martinique, México, Nicaragua, Panamá, Puerto Rico, Spain, the United States, Venezuela, and Zaire (10,11).

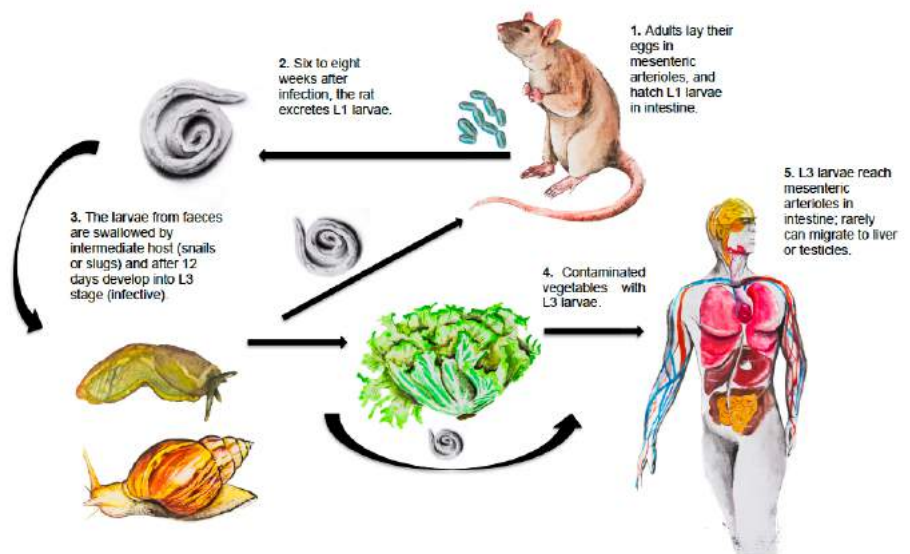
The adult nematode has a filiform morphology and its cephalic pole is round. The caudal end is knoblike and its esophagus is club-shaped. Its copulatory bursa is slightly asymmetric and well developed. The dorsal ray is short and bifurcates in branches ending in sharp tips (3,5,6).

The most important definitive hosts are rodent species, the main being *Sigmodon hispidus* (hispid cotton rat) (1,11). Other species such as *Rattus rattus*, *Zygodontomys microtinus*, *Orizomys fulvesceus*, and *Orizomys caliginosus* are also relevant (12). In some cases, even domestic dogs can be reservoirs (13). Intermediate hosts are slugs of the Veronicellidae family such as *Sarasinula plebeia* and snails such as *Lissachatina fulica*, but several other mollusks may also play a role as intermediate hosts (14-17). Adult worms reside inside the mesenteric arteries of rodents where females lay their eggs (18). Humans are accidental hosts due to the ingestion of contaminated vegetables, raw or undercooked snails, and mollusks containing L<sub>3</sub> larvae are necessary to become infected (19-22). The cycle is not completed when host-parasite adaptation fails (23) (figure 1).

**Figure 1.** *Angiostrongylus costaricensis* life cycle

Rats and other rodents are definitive hosts. Humans get infected when third-stage larvae are ingested. In rats, adult female worms produce approximately 15,000 eggs daily. Eggs are carried to the mesenteric arterioles and break into the intestinal lumen where they hatch. First-stage larvae (L<sub>1</sub>) are excreted with the feces and then they are swallowed by intermediate hosts (snails or slugs) and develop into third-stage larvae (L<sub>3</sub>) (infective). Human beings occasionally acquire the infection by eating snails, slugs or contaminated vegetables containing the infective larvae. The larvae enter the bloodstream in the intestine wall and can move to the liver or other abdominal organs causing angiostrongyliasis.

Illustrations by Óscar Chávez, photography by David Bolaños, design by Leonardo F. Jurado





In humans, both the eggs and the larvae provoke a severe inflammatory reaction in the ileocecal mucosa characterized by a granulomatous response with marked eosinophilic infiltrates. These pathological phenomena can trigger intestinal bleeding, perforation, and/or intestinal stenosis with subsequent obstruction (24,25).

In epidemiological terms, incidence or prevalence data are scarce. In Brazil, Graeff-Teixeira, *et al.* reported that seroprevalence in the general population was 28% (26). The clinical presentation is varied and ranges from asymptomatic to severe manifestations that require emergency surgery (27).

We describe here two cases of abdominal angiostrongyliasis in two children from the south-central region of the country (Huila and Caquetá departments). Interestingly, our cases are the first ones to be reported in Colombia in this century. The last case was reported in 1998 (28).

We discuss the epidemiology, pathogenic course, clinical presentation, and diagnosis of the cases focusing on their specific features. We also analyzed the previous cases reported in Colombia.

The report was approved by the Medical Ethics Committee in Neiva's *Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo*.

### Case 1

A twelve-year-old boy from Florencia (Caquetá) previously diagnosed with Down's syndrome was received in the emergency room referred from another hospital due to abdominal sepsis. In the referring hospital, he had already received multiple antibiotic schemes.

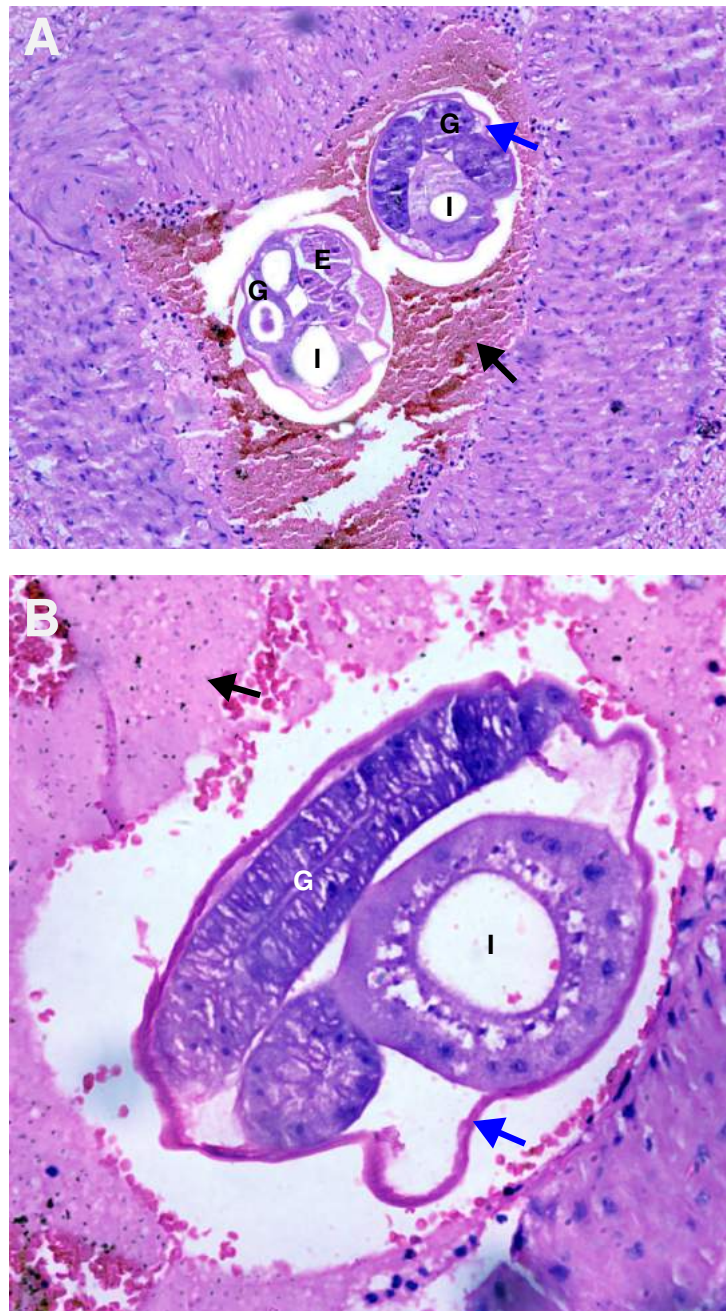
The patient had consulted 35 days before in Florencia with diarrhea and systemic inflammatory signs. Blood tests showed a high white blood cell count, neutrophilia, and positive acute phase reactants. An abdominal ultrasound evidenced cholelithiasis and free peritoneal fluid while the computed tomography (CT) scan showed hepatomegaly and nephrolithiasis.

At admission, the patient was hemodynamically stable, with mucocutaneous pallor and a body temperature of 36.8 °C. The chest physical examination was normal, the abdomen was found distended (80 cm in perimeter), and palpation was painful over the lower right quadrant, but no peritoneal irritation signs were found. The white blood cell count was 38,200 per mm<sup>3</sup> (90.5%, neutrophils; 4%, lymphocytes; 4%, monocytes, and 0.4%, eosinophils); hemoglobin level, 9.3 g/dl, and C reactive protein, 31 mg/l.

The abdominal CT scan was repeated and it showed severe intestinal distention affecting the jejunum and ileum, a mass located in the right iliac fossa, and free liquid in the cavity. The bone marrow aspirate was normal and only megakaryocyte and plasmocyte counts had increased.

A laparotomy was performed given the patient's clinical and radiological findings, which revealed generalized peritonitis and a plastron affecting the distal ileum, the greater omentum, and the appendix. The distal ileum was widely necrotic and the jejunum and ileum were severely distended. Ascitic fluid was drained and 5,300 ml of purulent fluid were collected, the plastron was liberated, and the appendix, part of the omentum and a portion of ileum were resected.

Between day two and day 22 after the surgery, the percentage of eosinophils progressively increased reaching 58.9% on day 29. A histological study of the surgical specimens showed intestinal ischemic necrosis due to vascular obstruction by larvae and eggs whose morphology suggested a nematode infection. The blood vessels of mesenteries, appendix, and lymphatic nodes also showed eggs. The morphological features and histological pattern allowed for the identification of the nematode as *A. costaricensis* (figure 2).



**Figure 2. A and B.** Mesenteric small artery with a thrombus (black arrow). Adult female worms cross-sectioned at different levels are observed inside. Note the cuticle (blue arrow), multinucleated intestine (I), and well-developed gonads (G) with eggs inside (E). Hematoxylin and eosin, 40X.

During the subsequent weeks, the patient showed a poor clinical response and required four additional surgical interventions and eleven peritoneal lavages. Other intestinal and mesenteric segments were resected because of perforation, necrosis, and adhesions.

The clinical course was unfavorable with significant weight loss. Gram-negative bacteria were isolated from both blood and peritoneal cultures. The patient received various antibiotic schemes and also IgM-enriched intravenous immunoglobulin, but he passed away after 97 days of his admission.

## Case 2

A four-year-old boy from the rural area of Pitalito municipality (Huila) was admitted to the emergency room after four days of pain in the lower right quadrant, fever, and dysuria. An intestinal mass was incidentally found during the appendectomy that was practiced given his acute abdominal signs. The appendix was normal, but an intraluminal mass with surrounding lymphatic nodules was found in the cecum. The mass had adhered to the anterior abdominal wall. The surgeon resected the appendix, but not the mass, and he referred the patient to a bigger hospital in Neiva.

When admitted in Neiva, he was in good general condition, he had no fever, and his vital signs were within the normal ranges. The abdomen was soft, depressible, and showed no palpable masses; there was peristalsis and the surgical wound was normal.

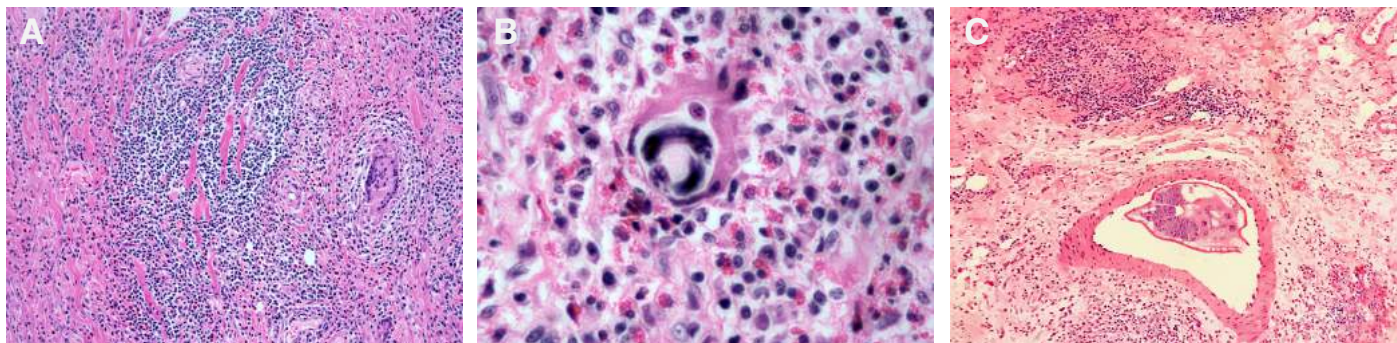
An initial blood test showed a white blood cell count of 9,200 per  $\text{mm}^3$  (58.4%, neutrophils; 22.5%, lymphocytes; 4.2%, monocytes, and 12.8%, eosinophils). The hemoglobin level was 10.6 g/l and reactive C protein was 5.7 mg/l. Considering his clinical and laboratory findings, metronidazole and amikacin were started.

An abdominal CT scan showed concentric and circumferential wall thickening involving the cecum, the ascending colon, and the right colic flexure. The lesion also affected the surrounding fat tissue and many lymphatic nodules were also observed.

Examination by the pediatric surgeon did not evidence acute abdomen signs or abdominal masses. The patient continued to show good clinical evolution. On the fifth day after admission, another CT scan was performed. It showed a mass occupying the low right quadrant, which suggested a Burkitt lymphoma. An exploratory laparotomy was programmed.

The histological study of the appendix resected during the first intervention in Pitalito showed lymphoid hyperplasia. After 12 days of admission, a blood test revealed a white blood cell count of 10,600 per  $\text{mm}^3$  (10.9% eosinophils). The laparotomy was performed on day 13 and the main findings were a plastron located in the lower right quadrant involving the omentum, the distal ileum, and the cecum, as well as multiple adhesions and a significant affection of the jejunal lumen. Macroscopically, the cecum and the colon lesions showed a neoplastic appearance. Therefore, a resection from the distal ileum to the transverse colon was carried out.

After this, the histological study showed ulcerated intestinal mucosa, thromboembolism in arterioles, eosinophilic vasculitis, chronic necrotizing granulomatous inflammation involving the whole intestinal wall, abundant



**Figure 3** **A.** Colonic submucosa surrounded by intense eosinophilic inflammation and granulomatous reaction with giant multinucleated cells. **B.** Intestinal tissue surrounded by severe eosinophilic infiltration and a developing larva. **C.** Mesenteric tissue affected by granulomatous eosinophilic reaction; note a small artery containing an adult female worm. Hematoxylin and eosin, 40X.

lymphoplasmacytoid and histiocytoid infiltrates, and eosinophilic clusters. Inside granulomas, giant multinucleated cells, and a high number of eggs were identified, and several larval structures inside the intestinal arterioles were evidenced. The morphological features and the histological pattern observed allowed their identification as *A. costaricensis* (figure 3).

Two ivermectin plus albendazole doses were administered for five days. The clinical evolution was satisfactory and after twenty days the patient was discharged.

#### Previous cases reported in Colombia

We analyzed the previous cases in Colombia reported in the literature after a search using the Mesh terms “angiostrongyliasis”, “*Angiostrongylus costaricensis*”, and “Colombia” in Medline (PubMed), SciELO, Google, and Google Scholar. Interestingly, we found that since 1998 no cases had been reported in Colombia (28).

#### Discussion

Morera and Céspedes first described abdominal angiostrongyliasis in Costa Rican patients in 1952 (2), and twenty years later the etiological agent was identified (3). Costa Rica is the most endemic country in the region as almost 90% of the cases reported worldwide originate there (11). This disease is more frequent in children and males as has been evident in Colombia where five out of the eight cases reported to date were in children less than 12-year-old while six were in males (28).

Human beings are accidental hosts and infection occurs after ingestion of mollusks, snails or contaminated vegetables containing the L<sub>3</sub> larvae (19,22). It has been informed that its frequency increases during rainy months because this facilitates the reproduction of the mollusks (29). In fact, both of our cases were diagnosed during the rainy season (March).

The real incubation period is unknown, but it is estimated to be three to four weeks. The eggs and larvae induce an intense inflammatory response generating a granulomatous reaction with eosinophilia that may evolve to intestinal stenosis.

Pathological studies have revealed that the most frequently affected organs are the appendix, the ileum, the colon, and the surrounding lymph nodes (29). In a case series where 90 patients were surgically intervened, 36

had only one organ affected (colon, ileum or appendix), and in 25 there was the involvement of at least three segments (colon, appendix, and cecum). Only in two cases were the cecum and sigmoid affected while one case had disseminated disease (30). In this series, only three cases showed affection of just one organ (small intestine and appendix) while the remaining five cases presented affection of at least two organs; in our cases, we identified omentum and jejunal involvement. Cases of extraintestinal invasion are very rare, but liver and testicles can be affected. Some authors suggest that anthelmintic therapy stimulates worm migration, which increases the risk of extraintestinal disease (25).

Macroscopically, two patterns are the most frequent: one characterized by the thickening of the intestinal wall (pseudoneoplastic) and the other showing a congestive necrotic pattern (ischemic-congestive) (11,28). In the two cases we described here, the 12-year-old patient had a congestive necrotic pattern while the four-year-old boy developed the pseudoneoplastic pattern. Additionally, hepatomegaly was identified in one of our patients, an alteration described in 50% of cases. In a case reported in Colombia in 1987 (28), the authors described severe vascular involvement causing arterial rupture, i.e., the hemorrhagic form of the disease, which is frequently fatal.

Histologically, two predominant patterns are usually described: severe eosinophilic infiltration involving all layers of the intestinal wall and a granulomatous reaction and eosinophilic vasculitis affecting capillaries, arteries, veins, and even lymphatic vessels (24). Both patients described here developed granulomatous inflammation with abundant eosinophil infiltrates (table 1).

Regarding the clinical presentation, general symptoms such as malaise and myalgias are usually present in all cases (11). Frequently, clinical findings mimic those of appendicitis (11,30). A systematic review of case reports informed that abdominal pain was present in 84% of cases, vomiting in 50%, diarrhea in 28%, and constipation in 14.2% (11). Generally, abdominal pain is localized in the right lower quadrant. Sometimes a painful mass or plastron can also be found in there, which is usually interpreted as complicated appendicitis or neoplastic lesion. In a case series of 116 children, fever (38 to 38,5° C) was present in 80% of them with an average duration of two to four weeks (30). Patients tend to have recurrent acute episodes over several months before seeking medical care (table 1).

**Table 1.** General characteristics of the cases described

Sex	Age	Origin	Clinical presentation	Organ affected	Pathological findings	Outcome
Male	12	Florencia (Caquetá)	Diarrhea, systemic inflammatory signs, abdominal distension, painful palpation in low - right quadrant. WBC count: 38,200 per mm <sup>3</sup> , 0.4% eosinophils	Distal ileum, omentum, and appendix	Hepatomegaly. Ischemic necrosis and granulomatous inflammation involving distal ileum, omentum, mesentery, and lymphatic nodes. Larvae and eggs inside vessels from all affected organs	Death
Male	4	Pitalito (Huila)	Acute appendicitis-like case. WBC count: 10,600 per mm <sup>3</sup> , 10.9% eosinophils	Jejunum, distal ileum, cecum, appendix, and omentum	Granulomatous inflammation and eosinophilic vasculitis involving jejunum, distal ileum, and cecum. Larvae and eggs over the affected tissue and parasites inside the vessels	Full recovery

WBC: White blood cells



In the systematic review of case reports (11), the average white blood cell count was 18,000/ $\mu$ l (7,600 – 30,000) and the absolute eosinophil average count was 4,978/ $\mu$ l (0 – 24,000) in 96% of the patients. The results for our cases are presented in table 1.

There is no validated serological test for an accurate diagnosis of angiostrongyliasis, which means that even in cases with high clinical suspicion and diagnostic probability, surgery is indicated (5). As informed by Romero-Alegría, *et al.* (11), diagnosis is done exclusively by pathology in 81% of the cases while in the remaining cases, pathology was accompanied by complementary serological techniques. Currently, confirmatory diagnosis is obtained through surgery and histopathology. The cases reported here were diagnosed through pathological studies (table 1).

The use of anthelmintic drugs such as diethylcarbamazine, thiabendazole, and levamisole is not recommended because it can provoke an erratic migration of the worms or the worsening of the lesions due to the inflammatory response to dead parasites (31). Thus, surgery is the treatment of choice (2,11,30).

Prevention and prophylactic strategies for angiostrongyliasis should be based on education and communication to communities with recognized endemicity. This includes precautions such as:

- 1) avoiding consumption of snails or animals that can be intermediate or paratenic hosts (particularly snails and slugs);
- 2) avoiding drinking water from potentially contaminated sources unless an adequate potabilization process is performed;
- 3) avoiding consuming raw vegetables that have not been properly washed with, ideally, a sodium hypochlorite solution, and
- 4) controlling the population of rats and snails near houses and in planted fields, especially invasive species such as the giant African snail (*Lissachatina fulica*), which is currently present in most of the Latin American countries, including Colombia (32).

### Final remarks

Abdominal angiostrongyliasis is a diagnostic challenge due to multiple reasons. First, its existence is little known. Second, seroprevalence is higher than the number of reported cases, which means that most infections are subclinical and do not require medical attention. Third, underdiagnosis makes it difficult to establish a real incidence. It is important to take into account that due to social and cultural changes during the last decades such as the increase in international tourism and migration trends (33), the epidemiological pattern of this disease has changed. For this reason, cases may appear outside of its originally endemic area.

From a public health perspective, the dissemination of *A. costaricensis* and *A. cantonensis* to non-endemic regions and the presence of rats and snails in peridomestic areas represent a substantial risk for future outbreaks. Therefore, it is mandatory to strengthen the projects that aim at raising awareness in the population about the risk of contracting angiostrongyliasis. Moreover, healthcare providers in the American continent should have this parasitic disease in mind to offer timely and adequate medical care.

The geographical distribution of *L. fulica* in Colombia is related to human settlements, deforestation, and industrial activities such as mining, agricultural production, and organic waste disposal (34). Therefore, surveillance and control of these intermediate and definitive hosts, as well as health education, should be provided in potential endemic regions to reduce human infection rates.

## References

1. Qiao-Ping W, De-Hua L, Xing-Quan Z, Xiao-Guang C, Zhao-Rong L. Human angiostrongyliasis. *Lancet Infect Dis*. 2008;8:621-30. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70229-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70229-9)
2. Morera P. Granulomas entéricos y linfáticos con intensa eosinofilia tisular producidos por un estrongilideo (*Strongylata*; Railliet y Henry, 1913): II. Aspecto parasitológico. *Acta Médica Costarricense*. 1967;10:257-65.
3. Morera P. Life history and redescription of *Angiostrongylus costaricensis* Moreira and Céspedes. *Am J Trop Med Hyg*. 1973;22:613-21. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1973.22.613>
4. Chen HT. A new pulmonary nematode of rats, *Pulmonema cantonensis* ng, nsp from Canton. *Ann Parasitol*. 1935;13:312-7.
5. Maldonado Jr A, Simões R, Thiengo S. Angiostrongyliasis in the Américas. In: Lorenzo-Morales J, editor. *Zoonosis*. Intechopen; 2012. p. 304-20. <https://doi.org/10.5772/38632>
6. Rebello KM, Menna-Barreto RF, Chagas-Moutinho VA, Mota EM, Perales J, Neves-Ferreira AG, et al. Morphological aspects of *Angiostrongylus costaricensis* by light and scanning electron microscopy. *Acta Trop*. 2013;127:191-8. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.05.002>
7. Graeff-Teixeira C, Camillo-Coura L, Lenzi H. Abdominal angiostrongyliasis-an underdiagnosed disease. *Mem Ins Oswaldo Cruz*. 1987;82:353-4. <https://doi.org/10.1590/s0074-02761987000800068>
8. Morera P, Céspedes R. *Angiostrongylus costaricensis* n. sp. (Nematoda: Metastrongyloidea), a new lungworm occurring in man in Costa Rica. *Rev Biol Trop*. 1971;50:377-94.
9. Morera P, Amador J. Prevalencia de la angiostrongilosis abdominal y la distribución estacional de la precipitación. *Revista Costarricense de Salud Pública*. 1998;7:1-14.
10. Kaminsky R, Caballero R, Andrews K. Presencia de *Angiostrongylus costaricensis* en Honduras y sus relaciones agro-ecológicas y humanas. *Parasitología al Día*. 1995;19:81-90.
11. Romero-Alegria A, Belhassen-García M, Velasco-Tirado V, García-Mingo A, Alvela-Suárez L, Pardo-Lledias J, et al. *Angiostrongylus costaricensis*: Systematic review of case reports. *Advances in Infectious Diseases*. 2014;4:36-41. <https://doi.org/10.4236/aid.2014.41007>
12. Malek EA. Presence of *Angiostrongylus costaricensis* Morera and Céspedes 1971 in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 1981;30:81-3. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1981.30.81>
13. Rodriguez R, Agostini AA, Porto SM, Oliveira AJ, Branco SL, Genro JP, et al. Dogs may be a reservoir host for *Angiostrongylus costaricensis*. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2002;44:55-6. <http://doi.org/10.1590/S0036-46652002000100010>
14. Duarte Z, Morera P, Dávila P, Gantier JC. *Angiostrongylus costaricensis* natural infection in *Vaginulus plebeius* in Nicaragua. *Ann Parasitol Hum Comp*. 1992;67:94-6. <https://doi.org/10.1051/parasite/199267394>
15. Graeff-Teixeira C. Expansion of *Achatina fulica* in Brazil and potential increased risk for *Angiostrongyliasis*. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg*. 2007;101:743-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2007.03.012>
16. Rambo PR, Agostini AA, Graeff-Teixeira C. Abdominal angiostrongylosis in southern Brazil prevalence and parasitic burden in mollusk intermediate hosts from eighteen endemic foci. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997;92:9-14. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761997000100002>
17. Thiengo SC, Fernandez MA, Torres EJ, Coelho PM, Lanfredi RM. First record of a nematode Metastrongyloidea (*Aelurostrongylus abstrusus* larvae) in *Achatina* (*Lissachatina*) *Fulica* (Mollusca, Achatinidae) in Brazil. *J Invert Path*. 2008;98:34-9. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.10.010>
18. Neafie RC, Marty AM. Unusual infections in humans. *Clin Microbiol Rev*. 1993;6:34-56. <https://doi.org/10.1128/cmr.6.1.34>

19. Kramer MH, Greer GJ, Quiñónez JF, Padilla NR, Hernández B, Arana BA, *et al.* First reported outbreak of abdominal angiostrongyliasis. *Clin Infect Dis.* 1998;26:365-72. <https://doi.org/10.1086/516325>
20. Maurer RL, Graeff-Teixeira C, Thome JW, Chiaradia LA, Sugaya H, Yoshimura K. Natural infection of *deroceras laeve* (Mollusca: Gastropoda) with metastrongylid larvae in a transmission focus of abdominal angiostrongyliasis. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2002;44:53-4. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652002000100009>
21. Mojon M. Human angiostrongyliasis caused by *Angiostrongylus costaricensis*. *Bull Acad Natl Med.* 1994;178:625-31.
22. Zanini GM, Graeff-Teixeira C. Abdominal angiostrongyliasis: Its prevention by the destruction of infecting larvae in food treated with salt, vinegar or sodium hypochlorite. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1995;28:389-92. <https://doi.org/10.1590/s0037-86821995000400013>
23. Magnaval JF. Parasitic dead-end: Update. *Méd Trop (Mars).* 2006;66:319-23.
24. Wu SS, French SW, Turner JA. Eosinophilic ileitis with perforation caused by *Angiostrongylus (Parastrongylus) costaricensis*. A case study and review. *Arch Path Lab Med.* 1997;121:989-91.
25. Vuong PN, Brama P, Bonète R, Houissa-Vuong S, Catanzano-Laroudie M, Baviera E. Necrotic eosinophilic angitis with ileal perforation and peritonitis secondary to abdominal angiostrongyliasis. *Presse Méd.* 2002;31:1700-3.
26. Graeff-Teixeira C, Goulart AH, Brum CO, Laitano AC, Sievers-Tostes C, Zanini GM, *et al.* Longitudinal clinical and serological survey of abdominal angiostrongyliasis in Guaporé, Southern Brazil, from 1995 to 1999. *Rev Soc Brasil Med Trop.* 2005;38:310-5. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822005000400006>
27. Rodríguez R, Dequi RM, Peruzzo L, Mesquita PM, Garcia E, Fornari F. Abdominal angiostrongyliasis: Report of two cases with different clinical presentations. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2008;50:339-41. <http://doi.org/10.1590/S0036-46652008000600005>
28. Rodríguez G. Hematoquecia letal por angiostrongilosis abdominal. *Biomédica.* 2000;20:120-30. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v20i2.1055>
29. Zúñiga SR, Cardona-López V, Alvarado D. Angiostrongilosis abdominal. *Rev Med Hondur.* 1983;51:184-92.
30. Loría-Cortés R, Lobo-Sanahuja JF. Clinical abdominal angiostrongylosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1980;29:538-44. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1980.29.538>
31. Morera P, Bontempo I. Acción de algunos antihelmínticos sobre *Angiostrongylus costaricensis*. *Rev Med Hosp Nac Niños Costa Rica.* 1985;20:165-74.
32. Instituto Nacional de Salud. Concepto científico - consumo de caracol gigante africano y su implicación en salud. Bogotá: Minsalud, Instituto Nacional de Salud; 2017. 7-26.
33. Jurado LF, Palacios DM, López R, Baldión M, Matijasevic E. Cutaneous gnathostomiasis, first confirmed case in Colombia. *Biomédica.* 2015;35:462-70. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i4.2547>
34. Linares E, Avendaño J, Martínez A, Rojas A. El caracol gigante africano, un visitante indeseado. *Miniguías de campo del Instituto de Ciencias Naturales.* No. 16. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2013. 5-12.



Artículo original

## El estrés crónico como mediador de la relación entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico de pacientes hipertensos

Deivis Nicolás Guzmán-Tordecilla<sup>1</sup>, Andrés Ignacio Vecino-Ortiz<sup>2,3</sup>, Diego Lucumí<sup>1</sup>, Graciela Mentz<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Gobierno, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Instituto de Salud Pública, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Department of International Health, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA

<sup>4</sup> Department of Health Behavior and Health Education, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA

**Introducción.** La hipertensión arterial sistémica es un problema de salud pública en el mundo. En Colombia, su prevalencia es del 25 % y la mortalidad es alta. Los factores psicosociales que afectan el cumplimiento del tratamiento farmacológico no han sido estudiados suficientemente. En otros países, se ha estudiado el papel del estrés crónico en la relación entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico antihipertensivo.

**Objetivo.** Examinar el papel del estrés crónico como mediador de la relación entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico, en pacientes hipertensos de 45 a 70 años en el 2015 y el 2016.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio transversal de una población de pacientes hipertensos. Los datos provienen de la muestra seleccionada para el programa “De todo corazón” en Bogotá, Medellín y Quibdó. El análisis estadístico de los datos se hizo mediante análisis factorial y regresiones multivariadas.

**Resultados.** Los resultados confirmaron una asociación positiva entre la posición socioeconómica y el grado de cumplimiento del tratamiento farmacológico, y una relación negativa entre la primera y el estrés crónico. Además, se evidenció que el estrés tiene una asociación negativa con el grado de cumplimiento.

**Conclusiones.** Los resultados sugieren que el estrés no es un mediador entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico antihipertensivo en Colombia. Se requieren estudios adicionales para confirmar estas relaciones con una muestra más amplia.

**Palabras clave:** estrés psicológico; hipertensión; cumplimiento del tratamiento; cumplimiento de la medicación; clase social; Colombia.

### Chronic stress as a mediator of the relationship between socioeconomic status and pharmacological adherence in hypertensive patients

**Introduction:** High blood pressure is a public health problem worldwide. In Colombia, its prevalence is 25% with a high mortality rate. The psychosocial factors affecting pharmacological adherence among patients have not been sufficiently studied and despite international evidence on their impact, in Colombia, there is a paucity of research on the role of chronic stress in the relationship between socioeconomic status and pharmacological adherence.

**Objective:** To examine the role of chronic stress in the relationship between socioeconomic status and pharmacological adherence in hypertensive patients aged 45 to 70 years old in three Colombian cities between 2015 and 2016.

**Materials and methods:** We conducted a cross-sectional study in a population of hypertensive patients. Data for this study came from the first wave of longitudinal study aimed at examining social factors associated with the control of hypertension in Bogotá, Medellín, and Quibdó. Patients with hypertension were selected randomly from a sample of those participating in the hypertension control program *De todo corazón*. For the statistical analysis of the data, we used factorial analysis and multivariate regressions.

**Results:** We found a positive association between socioeconomic status and the degree of pharmacological adherence and a negative one with chronic stress. Besides, evidence was found that stress has a negative association with the degree of adherence.

**Conclusions:** The results suggest that stress is not a likely mediator between socioeconomic status and the pharmacological adherence of hypertensive patients in Colombia. Additional studies are required to confirm these relationships with a larger sample.

**Recibido:** 19/10/2018

**Aceptado:** 15/08/2019

**Publicado:** 27/08/2019

#### Citación:

Guzmán-Tordecilla DN, Vecino-Ortiz AI, Lucumí D, Mentz G. El estrés crónico como mediador de la relación entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico en pacientes hipertensos. *Biomédica*. 2020;40:243-56. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4780>

#### Correspondencia:

Deivis Nicolás Guzmán-Tordecilla, Carrera 5 No 18-26, piso 301, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (51) 339 4949  
deivy-gt@hotmail.com

#### Contribución de los autores:

Todos los autores participaron en el diseño metodológico, el análisis de los datos, la redacción y la revisión final del manuscrito.

#### Financiación:

Este estudio fue financiado por el Grupo de Investigación de Factores Psicosociales en Psicología Clínica y de la Salud de la Universidad de los Andes en el marco del Programa “Determinantes sociales e inequidades en el control de la hipertensión arterial: mecanismos, impacto e intervención”, el cual recibe recursos de la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad de los Andes.

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran no haber tenido conflictos de intereses de ningún tipo durante el desarrollo del presente estudio.

**Keywords:** Stress, psychological; hypertension; treatment adherence and compliance; medication adherence; social class; Colombia.

La hipertensión arterial sistémica se considera un problema de salud pública a nivel mundial (1,2). Se estima que su prevalencia es mayor en Latinoamérica (39,1 %) que en otras partes del mundo (32,3 %) (3). Del total de personas hipertensas en el mundo, 9,4 millones mueren cada año, lo que convierte esta afección en el principal factor de riesgo de la enfermedad cardiovascular, con el 31 % (17,5 millones) del total de las muertes reportadas atribuibles a la misma (4,5). Además, se prevé que, en el 2025, habrá 1.500 millones de hipertensos en todo el mundo (2).

También en Colombia, la hipertensión arterial sistémica es un problema de salud pública. La prevalencia estimada a partir de una muestra poblacional de adultos fue de 25 % (6) y, en el 2015, se informó que había sido la causa básica de muerte de 5.157 personas (7). Esta cifra podría ser mayor, ya que se ha establecido que la hipertensión arterial es responsable, aproximadamente, del 45 % de las muertes por cardiopatías y del 51 % de aquellas por accidente cerebrovascular (4).

Se ha encontrado que, en general, las personas con hipertensión arterial sistémica poco cumplen con el tratamiento farmacológico (1,8-10), lo que se traduce en su control deficiente, y en disminución de la calidad de vida y de la supervivencia de quienes la padecen.

Según Gasperin, *et al.*, los pacientes que logran acceder al tratamiento farmacológico tienen un alto riesgo de abandonarlo a largo plazo, debido a múltiples factores psicosociales y a la naturaleza asintomática de la enfermedad (1), lo que explicaría el poco control (30 %) de la hipertensión arterial en el mundo (11). Se ha establecido, asimismo, que las personas que más incumplen el tratamiento y menos controlan su presión arterial son las que tienen una posición socioeconómica más baja (11,12).

La evidencia acumulada ha demostrado que la posición socioeconómica está asociada con los resultados en salud (13-15). Grotto, *et al.*, explican que esta puede influir en los comportamientos en salud y en el acceso a los servicios de salud o los medicamentos antihipertensivos (13). Además, constituye un factor que expone a las personas a condiciones de gran demanda psicológica y de estrés crónico (13-18). En Colombia, una significativa proporción de la población muestra condiciones socioeconómicas como bajo nivel educativo, elevada informalidad laboral y bajos ingresos (19-20), todo lo cual podría contribuir a exponerla al estrés crónico. Diversos autores han encontrado que la hipertensión arterial sistémica está asociada con el estrés (1,21-23). La exposición al estrés crónico no solo tiene efectos fisiológicos, sino que también genera comportamientos de riesgo para la salud, entre los que se encuentra el incumplimiento del tratamiento antihipertensivo (24,25).

El efecto del estrés crónico en el cumplimiento del tratamiento antihipertensivo farmacológico puede explicarse parcialmente por la carga cognitiva y emocional a la cual se enfrentan las personas con dicha condición. Es posible que al verse abrumadas por múltiples tareas diarias, opten por priorizar actividades más inmediatas, entre las que no se incluye la toma de los medicamentos antihipertensivos (23,26).

Sin embargo, la información publicada sobre el papel del estrés crónico como mediador de la relación entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento antihipertensivo farmacológico en

Latinoamérica, es escasa (27-30). En Colombia, los estudios publicados se han centrado en aclarar la forma en que el estrés predispone a esta condición o a su falta de control (31-35).

En ese orden de ideas, este estudio espera contribuir al conocimiento científico disponible en Colombia y Latinoamérica sobre la relación entre el estrés crónico y el cumplimiento del tratamiento farmacológico antihipertensivo, explorando el papel del primero como mediador entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento en pacientes hipertensos de 45 a 70 años de tres ciudades de Colombia, en el 2015 y el 2016.

## **Materiales y métodos**

### ***Muestra***

Los datos de este estudio provienen del programa “De todo corazón” desarrollado por el Grupo de Investigación de Factores Psicosociales en Psicología Clínica y de la Salud de la Universidad de los Andes. Este programa incluyó pacientes de 45 a 70 años de edad vinculados a programas de hipertensión arterial en Bogotá, Medellín y Quibdó. Estas ciudades difieren en términos de niveles de pobreza, oferta de servicios e infraestructura de servicios de salud, especialmente al comparar Quibdó con las otras dos ciudades (36-38).

“De todo corazón” es un programa de carácter longitudinal realizado en dos etapas que utiliza métodos mixtos. En la primera etapa, se seleccionaron las tres ciudades (Bogotá, Medellín y Quibdó) mediante muestreo de criterio o propósito de tipo heterogéneo, con el fin de examinar las variaciones o similitudes del fenómeno en diferentes contextos (39). En la segunda etapa, se seleccionaron dos entidades administradoras de planes de beneficio en cada ciudad: una con mayor cobertura en el régimen contributivo y, otra, en el subsidiado. Otros criterios preliminares para la selección de estas entidades fueron el contar con programas de hipertensión arterial, tener una cobertura igual o superior al tamaño de la muestra en cada ciudad, poseer un registro actualizado de las personas que formaban parte del programa y la disposición de participar en el estudio.

Por último, los participantes se seleccionaron por muestreo probabilístico estratificado basado en la distribución de edad y sexo, lo que permitió tener una muestra representativa de individuos dentro de cada entidad administradora de planes de beneficio con el mínimo sesgo de selección.

Los criterios de exclusión para los participantes fueron ser pacientes con diagnóstico concomitante de diabetes mellitus o con alguna discapacidad cognitiva, neurológica, motora o psiquiátrica, que les impidiera la adecuada resolución de las pruebas psicológicas, así como no hablar español.

En el estudio se tomó como muestra la primera ola del programa, conformada por 258 pacientes reclutados entre el 2015 y el 2016. En los análisis que se describen a continuación, se usaron los pesos muestrales desarrollados para la primera ola para incorporar elementos como la falta de respuesta y garantizar que, dentro del rango de edad del estudio, la muestra reflejara las características de edad y sexo de la población colombiana.

El programa “De todo corazón” fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de los Andes mediante el acta 531 del 2015, y el presente estudio fue aprobado y categorizado como estudio sin riesgo por el Comité de Ética de la Escuela de Gobierno Alberto Lleras Camargo de la misma universidad.

### **Instrumentos**

La información sobre las variables de interés se obtuvo mediante cuestionarios estandarizados. Para conocer las dimensiones de tales cuestionarios, se hicieron análisis factoriales con los pesos muestrales estimados por el programa (40).

### **Cumplimiento del tratamiento farmacológico**

Se usó la escala de cumplimiento del tratamiento farmacológico de Morisky (41), la cual fue creada para medir el cumplimiento del tratamiento farmacológico en pacientes hipertensos mediante la respuesta a cuatro preguntas dicotómicas sobre la toma de medicamentos por parte de los pacientes y las circunstancias en las que dejan de tomarlos (42). Esta escala se ha validado en Brasil, Perú y España, países de habla española o con contextos similares al de Colombia (43,44). En este estudio, el alfa de Cronbach para dicha escala fue 0,54, por lo cual se decidió crear un índice a partir de las preguntas, como se ha hecho en otros estudios (8,10).

Las preguntas de la escala son las siguientes: 1) ¿Alguna vez olvida tomar la medicación para la hipertensión arterial? 2) ¿Algunas veces olvida tomar los medicamentos a las horas indicadas? 3) Cuando se siente mejor, ¿a veces deja de tomar la medicación? y, por último, 4) Cuando se siente mal ¿a veces deja de tomar la medicación? Las opciones de respuesta eran “sí” o “no”, y se asignaba un punto a cada respuesta afirmativa y cero a cada respuesta negativa. Se consideró como pacientes que cumplían el tratamiento a aquellos que respondieron negativamente a todas las preguntas, y que lo incumplían, a aquellos que respondieron a una o más preguntas afirmativamente.

### **Estrés crónico**

Para medir el estrés crónico se usó la escala de Cohen, *et al.* (45), con la cual se evalúa el nivel de estrés percibido por las propias personas durante el último mes. Consta de 14 ítems cuyas respuestas se califican en una escala de cinco puntos (45). En este estudio, se obtuvo un alfa de Cronbach de 0,85, lo que se considera como indicativo de buena fiabilidad. Además, en el análisis factorial se determinó un único factor con un valor propio (*Eigenvalue*) de 6,4 que acumuló el 45 % de la varianza de la escala. Este mismo cuestionario se validó en Colombia con un alfa de 0,87 y el análisis factorial mostró dos factores (afrentamiento y percepción del estrés) que explicaron el 49,6 % de la varianza (46). Además, se ha encontrado que la escala de Cohen tiene una relación significativa con los niveles de cortisol en el cabello (47), el cual es un biomarcador que ha demostrado ser confiable para medir el estrés crónico (48-50).

### **Posición socioeconómica**

Para las variables de posición socioeconómica, se usó la versión larga del cuestionario “Nivel socioeconómico en la vida adulta” propuesto por la Red MacArthur en el 2009 para medir el estatus socioeconómico y la salud, el cual consta de 12 preguntas (51). De él se tomaron las variables de nivel educativo y posición en la comunidad, la primera de estas categorizada como “sin primaria, primaria, bachillerato y más de bachillerato”, en tanto que la variable de posición en la comunidad se usó de forma continua.

Para establecer la variable de posición en la comunidad, se les indicaba a los participantes que seleccionaran en una escalera de diez peldaños aquel en el que consideraban que se encontraban, correspondiendo los más altos a una posición más alta en la comunidad y los más bajos a una más baja.

### **Covariables**

La información sobre las covariables también se obtuvo utilizando cuestionarios estandarizados. Para la variable de apoyo social, se utilizó el cuestionario *Medical Outcomes Study-Social Support Survey* (MOS-SSS), escala de Sherbourne, *et al.* (52) ya validada en Colombia (53). Este cuestionario consta de 20 ítems y evalúa cuatro componentes: apoyo emocional e informativo, apoyo instrumental, interacción social positiva y apoyo afectivo, y puede usarse como una escala global que reúne todos estos componentes. En el análisis factorial, se encontró que el primer componente tenía un valor propio de 12,8 y acumulaba el 68 % de la varianza, con un alfa de 0,96. Para efectos de este estudio, se usó la escala de forma global.

Otras covariables del estudio fueron la etnicidad asignada por observación (minorías y no minorías), el sexo (hombres y mujeres), la edad (medida de manera continua en años cumplidos) y la ciudad de residencia del participante (Bogotá, Quibdó o Medellín).

### **Análisis estadístico**

Inicialmente, se hizo un análisis descriptivo seguido de uno bivariado mediante regresiones simples entre las variables de posición socioeconómica y estrés crónico, lo que permitió conocer la distribución y la asociación del estrés crónico con las variables de posición socioeconómica. En segundo lugar, se utilizaron funciones *logit* multivariadas para evaluar el efecto mediador del estrés crónico entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico, teniendo en cuenta los criterios de mediación propuestos anteriormente (54,55).

Freedman y Schatzkin propusieron dos pasos para explorar la mediación mediante regresiones (56): 1) usar un modelo con el predictor (X) y la variable de resultado (Y):  $X \rightarrow Y$ , y 2) usar un segundo modelo con la variable predictora, la de mediación (M) y la de resultado:  $X \rightarrow M \rightarrow Y$  para, posteriormente, comparar el coeficiente de X en ambos modelos, esperando encontrar una disminución de la significación estadística y del efecto entre el predictor y la variable de resultado, esto en caso de presentarse una mediación. Los dos modelos se ajustaron con las covariables descritas previamente.

Para la selección de los modelos, se utilizaron los criterios de información bayesianos y de Akaike; asimismo, se estimó el factor de inflación de la varianza y, por último, se usaron errores estándar consistentes.

Los niveles de significación se determinaron a partir de un valor de p menor o igual a 0,1 dadas las características de medición de las variables de interés y el tamaño de la muestra (57). Todos los análisis se hicieron con el programa Stata 14™.

### **Resultados**

La muestra estudiada incluyó 258 pacientes hipertensos, 161 mujeres y 97 hombres, de los cuales el 33 % residía en Bogotá, el 37 % en Medellín y el 30 % en Quibdó. El 39 % de los pacientes pertenecía a minorías étnicas.

En cuanto al cumplimiento del tratamiento, el 73 % no lo cumplía; más del 60 % de los participantes no tenía estudios universitarios y el 48 % no estaba empleado. La media de edad fue de 58 años, con un promedio de 16,62 y 78,37 para las escalas de estrés crónico y apoyo social, respectivamente. La variable de posición en la comunidad tuvo una media de 5,097 (cuadro 1).

### Regresiones simples

*Distribución del estrés según las variables de posición socioeconómica.* En cuanto a la distribución y asociación del estrés con la posición socioeconómica (cuadro 2), se encontró que las personas con mayores niveles educativos, es decir, bachillerato y por encima de bachillerato, tuvieron, respectivamente, puntajes promedios de estrés crónico 2,98 y 2,49 mayores que las personas con menor nivel educativo (sin primaria). Por otro lado, por cada peldaño adicional de posición social ocupado en la comunidad, las personas disminuyeron, en promedio, 0,42 puntos en la escala de estrés ( $p=0,06$ ).

Los modelos multivariados finales (cuadro 3) se eligieron teniendo en cuenta los criterios de bondad de ajuste tradicionales: AIC (*Akaike Information Criterion*) y BIC (*Bayesian Information Criterion*), y la prueba de multicolinealidad fue menor de 10.

*Modelo 1: posición socioeconómica y cumplimiento del tratamiento farmacológico.* Las personas con menor nivel de educación reportaron menores probabilidades de cumplir el tratamiento. Por ejemplo, la probabilidad de cumplir el tratamiento de aquellos con educación primaria aumentó 0,35 veces en comparación con las personas sin primaria, en tanto que quienes tenían un nivel superior al bachillerato la aumentaron en 0,18 veces; ambas categorías de educación tuvieron un valor de  $p>0,1$ . En contraste, en promedio, por cada peldaño de más en la posición en su comunidad, su probabilidad de cumplir el tratamiento disminuyó 0,76 veces ( $p=0,2$ ).

**Cuadro 1.** Datos descriptivos de los pacientes hipertensos participantes de Bogotá, Medellín y Quibdó

VARIABLES	n	Media o porcentaje (%)
Cumplimiento del tratamiento	250	
No	182	73
Estrés	258	16,62 (DE=8,75; rango: 0 a 42)
Educación	258	
Sin primaria	49	19
Primaria	59	23
Bachillerato	57	22
Más que bachillerato	93	36
Posición en la comunidad	257	5,09 (DE=2,40; rango: 1 a 10)
Sexo	258	
Hombre	98	38
Edad	258	58 (DE=6,46; rango: 5 a 70)
Etnicidad	258	
No perteneciente a minorías	157	61
Minorías	101	39
Ciudad	258	
Bogotá	85	33
Medellín	96	37
Quibdó	77	30
Apoyo social	258	78,37 (DE=17,77; rango: 0 a 95)

Nota: en la columna de "media o porcentaje (%)" se presentan en paréntesis las desviaciones estándar (DE) y los rangos de las variables continuas.

**Modelo 2: posición socioeconómica, estrés crónico y cumplimiento del tratamiento farmacológico.** La variable de educación mantuvo la misma tendencia encontrada en el modelo 1, es decir, las personas con mayor nivel educativo tenían más probabilidades de cumplir el tratamiento que aquellas sin primaria, con un valor de  $p$  mayor de 0,1. En cuanto a la variable de posición en la comunidad, se encontró que, en promedio, por cada peldaño de más en la comunidad la probabilidad de cumplir el tratamiento disminuyó 0,11 veces ( $p=0,06$ ), lo que denota un aumento en la significación estadística y el coeficiente. En cuanto al estrés y el cumplimiento, se estableció una asociación significativa y negativa ( $p=0,001$ ), lo que indica que las personas con mayores niveles de estrés crónico eran las que menos cumplían el tratamiento.

Es preciso indicar que la relación entre la variable de nivel educativo y el cumplimiento del tratamiento no presentó cambios en su significación estadística al incluir la variable de estrés; sin embargo, cuando se revisó la relación entre la posición en la comunidad y el cumplimiento del tratamiento

**Cuadro 2.** Distribución del estrés en función de las variables de posición socioeconómica mediante regresiones lineales simples

Variables de posición socioeconómica	Coeficiente $\beta$	EE
Educación (categoría de referencia "Sin primaria")		
Primaria	1,61	1,69
Bachillerato	2,98*	1,70
Más de bachillerato	2,49*	1,55
Posición en la comunidad	-0,42*	0,22

EE: error estándar

\* $p \leq 0,1$ ; \*\* $p \leq 0,05$ ; \*\*\* $p \leq 0,01$

La variable dependiente de los modelos fue la escala de estrés. Estos modelos se utilizaron sin pesos muestrales. La variable de posición en la comunidad se midió en una escalera de uno a diez peldaños, en la que los más altos correspondían a una mejor posición en la comunidad.

**Cuadro 3.** Resultado del modelo de ecuaciones estructurales para las variables

Variables (variable de referencia)	Modelo 1 (Cumplimiento)		Modelo 2 (Cumplimiento)	
	(OR)	(EE)	OR	(EE)
Estrés			-0,05***	0,01
Educación (Sin primaria)				
Primaria	0,35	0,35	0,48	0,38
Bachillerato	0,11	0,41	0,33	0,44
Más que bachillerato	0,18	0,38	0,40	0,42
Posición en la comunidad	-0,07	0,06	-0,11*	0,06
Sexo (Mujer)				
Hombre	-0,21	0,26	-0,30	0,25
Edad	0,02	0,01	-0,20	0,01
Etnicidad (No perteneciente a minorías)				
Minorías	0,24	0,37	0,29	0,35
Ciudad (Bogotá)				
Medellín	-0,49*	0,30	-0,56*	0,31
Quibdó	-1,02**	0,45	-1,08**	0,45
Apoyo social	0,003	0,007	-0,01	0,007

OR: *odds ratio*; EE: error estándar

\* $p \leq 0,1$ ; \*\* $p \leq 0,05$ ; \*\*\* $p \leq 0,01$

Los modelos 1 y 2 tienen como variable de resultado el cumplimiento. El modelo 1 no incluyó la variable estrés. Los dos modelos se ajustaron por sexo, edad, etnicidad, ciudad y apoyo social.

en presencia de la variable estrés, se encontró que la significación estadística y el efecto aumentaron, por lo que no se cumplió el supuesto de mediación planteado por Freedman y Schatzkin (56).

Por último, tanto en el modelo 1 como en el 2, las personas que vivían en Quibdó y Medellín tenían menores probabilidades de cumplir con el tratamiento ( $p \leq 0,1$ ) en comparación con quienes vivían en Bogotá.

## Discusión

En este estudio se examinó el papel del estrés crónico como mediador de la relación entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico en pacientes hipertensos de tres ciudades de Colombia. Hasta donde se pudo constatar, este es el primero de este tipo que se realiza en Colombia. Los principales hallazgos sugieren que el estrés no es un mediador entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento. Se establecieron asociaciones significativas entre las diferentes variables de interés y la asociación mencionada aumentó al incluir la variable del estrés. Además, hubo algunos hallazgos novedosos que se discuten a continuación.

Se encontró que los participantes con mayor nivel educativo reportaban mayores niveles de estrés, lo que en algunos casos se contrapone y en otros coincide con algunos estudios (58,59): en una muestra de 283 hombres, Landsbergis, *et al.*, establecieron que las personas más educadas presentaban menores niveles de estrés (58), en tanto que, en una muestra de 444 mujeres, Garay, *et al.* reportaron que, a mayor educación, mayores los niveles de estrés (59), lo que, según los autores, se debe a que muchas mujeres mayores de 40 años en Latinoamérica aún cumplen una doble función social, pues su mayor nivel educativo aumenta sus posibilidades de incorporarse a la fuerza laboral, y ello se suma a las responsabilidades del hogar que muchas de ellas todavía cumplen (59). Esta situación podría aumentar la carga cognitiva derivada de las múltiples actividades que deben realizar.

El argumento expuesto por Garay, *et al.*, podría explicar el por qué en el presente estudio los participantes más educados presentaron mayores niveles de estrés, ya que, de los 258 participantes, 161 eran mujeres con una media de edad de 58 años.

En cuanto a la posición socioeconómica subjetiva o posición en la comunidad y el estrés, se determinó que, por cada peldaño adicional en su posición en la comunidad, las personas reportaban menores niveles de estrés crónico, lo que va en la misma línea de lo presentado por Tang, *et al.*, en un metaanálisis (60) en el cual concluyeron que las personas que se percibían en una mejor posición en la escala social reportaban mejores resultados en salud.

Por otro lado, aunque los resultados de los dos modelos empleados difirieron en la significación y la magnitud de los coeficientes, las tendencias fueron las mismas en ambos. El resultado derivado de los dos modelos en cuanto a la relación entre la posición socioeconómica subjetiva y el cumplimiento del tratamiento farmacológico contrasta con lo hallado en otros estudios (61), ya que, por cada peldaño en la escalera de posición en la comunidad, las personas tuvieron menores probabilidades de cumplir con el tratamiento, en tanto que, en su estudio, Demakakos, *et al.* hallaron que, a mayor posición socioeconómica subjetiva, mejores resultados cardiovasculares (61). Por su parte, Tang, *et al.* refieren que el instrumento de MacArthur usado para medir dicha posición podría presentar un sesgo de



respuesta (60). Por ejemplo, las personas que se clasifican en lo alto de la escalera podrían verse afectadas por el fenómeno de la deseabilidad social, lo que explicaría que quienes menos cumplen con el tratamiento reporten una posición socioeconómica subjetiva alta.

Ahora bien, la razón de que la variable de la posición en la comunidad esté asociada negativamente con la variable de cumplimiento del tratamiento, sería que, cuanto mejor es la posición en la comunidad, mayor es la demanda por elevarla, lo que implicaría tener menos tiempo para tomar los medicamentos y una mayor carga cognitiva, con el consecuente incumplimiento del tratamiento. Las personas con liderazgo en sus comunidades suelen reportar puntajes altos en la escala de posición socioeconómica subjetiva y mayores niveles de estrés (52,62). Por ello, es factible que dicha condición pueda interferir, en alguna medida, con el cumplimiento del tratamiento.

Además de lo ya mencionando, el hecho de tener un nivel educativo más alto resultó en un mejor cumplimiento del tratamiento, resultado similar al del estudio de Chow, *et al.* (11).

En el presente estudio, la relación entre el estrés crónico y el cumplimiento del tratamiento farmacológico fue negativa, pues los puntajes más altos en la escala de estrés se relacionaron con una menor probabilidad de cumplimiento. Este hallazgo es consistente con lo encontrado por Marshall, *et al.* en una revisión sistemática de estudios en 19 países, en la cual el estrés afectó negativamente dicho cumplimiento (23).

En cuanto al hecho de que a mayores niveles de estrés, menor es la probabilidad de cumplir con el tratamiento, diversos autores han explicado que ello puede deberse a que los pacientes con síntomas de estrés serían más propensos a los efectos negativos de los medicamentos dada su condición de irritabilidad o ansiedad (23,63). Otra posible explicación es que las personas con mayores niveles de estrés crónico sean quienes tienen una mayor carga cognitiva, lo que les dificulta priorizar actividades como la toma de los medicamentos en las horas y las cantidades indicadas.

Un hallazgo coincidente en el presente estudio es que el cumplimiento difirió según el lugar de residencia, pues en Quibdó, la ciudad con el menor desarrollo socioeconómico, la probabilidad de cumplir con el tratamiento fue 1,02 veces menor que en Bogotá. Aunque no se encontraron otros estudios que compararan diversas zonas urbanas (64), en el país, sí se han reportado diferencias entre lo urbano y lo rural. En su estudio, Camacho, *et al.*, encontraron que las personas residentes en las zonas rurales de Colombia con menor desarrollo socioeconómico cumplían menos con el tratamiento que quienes vivían en zonas urbanas (65).

Algunas limitaciones del presente estudio merecen consideración. Primero, la muestra fue limitada en términos de diversidad racial (una sola observación en población indígena); sin embargo, incluso unificando las observaciones en población indígena y afrocolombiana bajo el criterio de minorías étnicas, no se evidenció una asociación significativa. Segundo, el tamaño de la muestra (258 participantes) limitó el poder estadístico para detectar asociaciones significativas, pero de todas maneras se encontraron relaciones significativas entre las variables de interés. Tercero, la información provenía de los propios participantes, incluida la medición de la variable de estrés en una escala cuyas preguntas tenían como referencia el último mes, lo que podría implicar un

sesgo de memoria, aunque debe mencionarse que, según diferentes estudios, esta escala tiene similitud con biomarcadores del estrés crónico (47-50).

La valoración indirecta del cumplimiento del tratamiento está relacionada con posibles sesgos de información, como la deseabilidad social. Sin embargo, el cuestionario empleado se creó para valorar el cumplimiento del tratamiento en pacientes con hipertensión arterial y, además, es breve y muy fácil de aplicar, tiene una gran especificidad y un gran valor predictivo positivo, así como poca exigencia para su comprensión, y fue validado en su versión española por Val, *et al.* (43), y se ha usado previamente en Colombia (10).

Por último, debe mencionarse el sesgo de autoselección. Los pacientes que hicieron parte de esta muestra podrían considerarse como los que más cumplían el tratamiento, dadas su disposición para ser parte de un programa de hipertensión arterial y su voluntad de participar en este estudio. En otras personas, el cumplimiento podría ser menor debido a diversos factores psicosociales y biológicos que interferirían en la toma de sus medicamentos.

A pesar de todas las limitaciones, el estudio sugiere que el estrés crónico no es un mediador entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico en pacientes hipertensos inscritos en programas de hipertensión en Quibdó, Bogotá y Medellín, aunque permite plantear la hipótesis de que puede ser un elemento modificador de dicha relación. Estos hallazgos no son concluyentes, por lo que deben considerarse con cautela, ya que la muestra no fue lo suficientemente amplia para el país y las asociaciones significativas se establecieron a partir de un valor de  $p$  de 0,1 o menos.

En futuros estudios en el país, deberá contarse con muestras más amplias y representativas y con mayor participación de minorías étnicas, y medir el cumplimiento y el estrés crónico con otros cuestionarios para indagar sobre el mecanismo moderador del estrés en esta relación. Se sugiere, asimismo, incorporar otros grupos poblacionales pertenecientes a diferentes niveles socioeconómicos que no necesariamente estén en programas de hipertensión arterial.

Por otro lado, los proveedores de servicios de salud deberían evaluar sistemáticamente signos de estrés crónico en sus pacientes como un factor de riesgo para el incumplimiento del tratamiento farmacológico.

### Agradecimientos

Los autores agradecemos al equipo del programa “De todo corazón” por los comentarios hechos al manuscrito.

### Referencias

1. Gasperin D, Netuveli G, Dias-da-Costa JS, Pattussi MP. Effect of psychological stress on blood pressure increase: A meta-analysis of cohort studies. *Cad Saúde Pública*. 2009;25:715-26. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2009000400002>
2. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: Analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365:217-23. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)17741-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17741-1)
3. Sarki AM, Nduka CU, Stranges S, Kandala NB, Uthman OA. Prevalence of hypertension in low- and middle-income countries: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94:1-16. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001959>
4. World Health Organization. Causes of death 2008: Data sources and methods Fecha de consulta: 29 de junio de 2018. Disponible en: [http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/cod\\_2008\\_sources\\_methods.pdf](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/cod_2008_sources_methods.pdf)

5. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, *et al.* A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380:2224-60. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61766-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61766-8)
6. Lucumí-Cuesta DI. Disparities in hypertension in Colombia: A mixed-method study. Fecha de consulta: 22 de junio de 2018. Disponible en: [https://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/107278/dilucumi\\_1.pdf](https://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/107278/dilucumi_1.pdf)
7. Instituto Nacional de Salud, Observatorio Nacional de Salud. Quinto informe ONS - Carga de enfermedad por enfermedades crónicas no transmisibles y discapacidad en Colombia. Fecha de consulta: 24 de junio de 2018. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/informe-ons-5.pdf>
8. Castaño-Castrillón JJ, Echeverri-Rubio C, Giraldo-Cardona JF, Maldonado-Mora Á, Melo-Parra J, Meza-Orozco GA, *et al.* Adherencia al tratamiento de pacientes hipertensos atendidos en Assbasalud ESE, Manizales (Colombia) 2011. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2012;60:179-97.
9. Guarín-Loaiza GM, Pinilla-Roa AE. Adherencia al tratamiento antihipertensivo y su relación con la calidad de vida en pacientes de dos hospitales de Bogotá, D.C. 2013-2014. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2016;64:651-7. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v64n4.52217>
10. Casas MC, Chavarro LM, Cardona D. Adhesión al tratamiento de la hipertensión arterial en dos municipios de Colombia. 2010-2011. *Hacia la Promoción la Salud*. 2013;18:81-96.
11. Chow CK, Teo KK, Rangarajan S, Islam S, Gupta R, Avezum A, *et al.* Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries. *JAMA*. 2013;310:959-68. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.184182>
12. Rolnick SJ, Pawloski PA, Hedblom BD, Asche SE, Bruzek RJ. Patient characteristics associated with medication adherence. *Clin Med Res*. 2013;11:54-65. <https://doi.org/10.3121/cmr.2013.1113>
13. Grotto I, Huerta M, Sharabi Y. Hypertension and socioeconomic status. *Curr Opin Cardiol*. 2008;23:335-9. <https://doi.org/10.1097/HCO.0b013e3283021c70>
14. Link BG, Phelan JC. Social conditions as fundamental causes of disease social conditions as fundamental causes of disease. *J Health Soc Behav*. 1995;35:80-94. <https://doi.org/10.2307/2626958>
15. Adler NE, Boyce T, Chesney M, Cohen S, Folkman S, Kahn RL, *et al.* Socioeconomic status and health. The challenge of the gradient. *Am Psychol*. 1994;49:15-24. <https://doi.org/10.1037/0003-066X.49.1.15>
16. Baum A, Garofalo JP, Yali M. Socioeconomic status and chronic stress. Does stress account for SES effects on health? *Ann N Y Acad Sci*. 1999;896:131-44. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb08111.x>
17. Colhoun HM, Hemingway H, Poulter NR. Socio-economic status and blood pressure: An overview analysis. *J Hum Hypertens*. 1998;12:91-110.
18. Cha SH, Park HS, Cho HJ. Socioeconomic disparities in prevalence, treatment, and control of hypertension in middle-aged Koreans. *J Epidemiol*. 2012;22:425-32. <https://doi.org/10.2188/jea.JE20110132>
19. Ministerio de Educación. Población colombiana con muy bajo nivel educativo, según los resultados del censo. Fecha de consulta: 18 de septiembre de 2017. Disponible en: <http://www.mineducacion.gov.co/cvn/1665/fo-article-99519.pdf>
20. Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Censo general 2005. Fecha de consulta: 5 de septiembre de 2018. Disponible en: <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/demografia-y-poblacion/censo-general-2005-1>
21. Landsbergis PA, Dobson M, Koutsouras G, Schnall P. Job strain and ambulatory blood pressure: A meta-analysis and systematic review. *Am J Public Health*. 2013;103:61-71. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2012.301153>
22. Liu MY, Li N, Li WA, Khan H. Association between psychosocial stress and hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Neurol Res*. 2017;39:573-80. <https://doi.org/10.1080/01616412.2017.1317904>
23. Marshall IJ, Wolfe CD, McKeivitt C. Lay perspectives on hypertension and drug adherence: Systematic review of qualitative research. *BMJ*. 2012;345:e3953. <https://doi.org/10.1136/bmj.e3953>

24. Kershaw KN, Lane-Cordova AD, Carnethon MR, Tindle HA, Liu K. Chronic stress and endothelial dysfunction: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Hypertens*. 2017;30:75-80. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpw103>
25. Mena-Díaz FC, Nazar G, Mendoza-Parra S. Antecedentes de adherencia al tratamiento en pacientes hipertensos de un centro de salud chileno. *Hacia la Promoción de la Salud*. 2018;23:67-78.
26. Zen AL, Zhao S, Whooley MA, Cohen B. Post-traumatic stress disorder is associated with poor health behaviors: Findings from the heart and soul study. *Sport Med*. 2012;31:194-201. <https://doi.org/10.1037/a0025989>
27. Sandoval D, Chacón J, Koch E, Romero T, Henríquez Ó, Muñoz R. Influencia de factores psicosociales en la adherencia al tratamiento farmacológico antihipertensivo. Resultados de una cohorte del Programa de Salud Cardiovascular de la Región Metropolitana, Chile. *Rev Med Chil*. 2014;142:1245-52. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872014001000003>
28. Estela L, Morales R. La adherencia al tratamiento en las enfermedades crónicas. *Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vascul*. 2015;16:175-89.
29. Chacón J, Sandoval D, Muñoz R, Romero T. Evaluación del control de la presión arterial y la adherencia terapéutica en hipertensos seguidos en el Programa de Salud Cardiovascular (PSCV): asociación con características clínicas, socioeconómicas y psicosociales. *Rev Chil Cardiol*. 2015;34:18-27. <https://doi.org/10.4067/S0718-85602015000100002>
30. Trujano R, Ávila D, Vega Z, Nava C. Estrés familiar y adherencia terapéutica en pacientes con enfermedades crónicas. *Alternativas en Psicología*. 2012;16:78-84.
31. Pérez LH, Gutiérrez LA, Vioque J, Torres Y. Relation between overweight, diabetes, stress and hypertension: A case-control study in Yarumal - Antioquia, Colombia. *Eur J Epidemiol*. 2001;17:275-80.
32. Campo JE, Reyes JJ, Ortiz C, Quintero L, Herrera JA. Niveles de la presión arterial y de estrés psicosocial en estudiantes de la Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia, 2003-2004. *Colomb Med*. 2006;37:21-5.
33. Herrera E. Adherencia al tratamiento en personas con hipertensión arterial. *Avances en Enfermería*. 2012;30:67-75.
34. Rodríguez-López M, Varela A M, Rincón-Hoyos H, Velasco M, Caicedo D, Méndez F, *et al*. Prevalencia y factores asociados a la adherencia al tratamiento no farmacológico en pacientes con hipertensión y diabetes en servicios de baja complejidad. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública* 2015;33:192-9. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v33n2a06>
35. Legido-Quigley H, Camacho-López PA, Balabanova D, Perel P, López-Jaramillo P, Nieuwlaet R, *et al*. Patients' knowledge, attitudes, behaviour and health care experiences on the prevention, detection, management and control of hypertension in Colombia: A qualitative study. *PLoS One*. 2015;10:e0122112. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122112>
36. Cortés D, Vargas JF. Inequidad regional en Colombia. Fecha de consulta: 18 de septiembre de 2017. Disponible en: <http://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/10980/10081.pdf>
37. Ministerio de Salud y Protección Social. Análisis de la Situación de Salud (ASIS) Colombia 2015. Fecha de consulta: 5 de septiembre de 2017. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-2015.pdf>
38. Secretaría de Salud del Chocó. Análisis de situación de salud (ASIS) con el modelo de los determinantes sociales de salud. Fecha de consulta: 5 de septiembre de 2017. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Paginas/freesearchresults.aspx?k=&k=asis%20choco%202015>
39. Patton MQ. *Qualitative evaluation and research methods*. 2nd edition. Thousand Oaks, CA: Sage Publications; 1990. p. 277-82.
40. Acock A. *A gentle introduction to Stata*. 3rd edition. Texas: Stata Press; 2012.
41. Morisky DE, Green LW, Levine DM. Concurrent and predictive validity of a self-reported measure of medication adherence. *Med Care*. 1986;24:67-74.
42. Pérez-Escamilla B, Franco-Trigo L, Moullin J, Martínez-Martínez F, García-Corpas J. Identification of validated questionnaires to measure adherence to pharmacological antihypertensive treatments. *Patient Prefer Adherence*. 2015;9:569-78. <https://doi.org/10.2147/PPA.S76139>

43. Val A, Amorós G, Martínez P, Fernández ML, León M. Descriptive study of patient compliance in pharmacologic antihypertensive treatment and validation of the Morisky and Green test. *Atención Primaria*. 1992;10:767-70.
44. Bastos-Barbosa RG, Ferrioli E, Moriguti JC, Nogueira CB, Nobre F, Ueta J, *et al*. Treatment adherence and blood pressure control in older individuals with hypertension. *Arq Bras Cardiol*. 2012;99:636-41. <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2012005000054>
45. Cohen S, Kamarck T, Mermelstein R. A global measure of perceived stress. *J Health Soc Behav*. 1983;24:385-96.
46. Campo-Arias A, Bustos-Leiton G, Romero-Chaparro A. Consistencia interna y dimensionalidad de la Escala de Estrés Percibido (EEP-10 y EEP-14) en una muestra de universitarias de Bogotá, Colombia. *Aquichan*. 2009;9:271-80.
47. van Uum SH, Sauvé B, Fraser LA, Morley-Forster P, Paul TL, Koren G. Elevated content of cortisol in hair of patients with severe chronic pain: A novel biomarker for stress. *Stress*. 2008;11:483-8. <https://doi.org/10.1080/10253890801887388>
48. Gleib DA, Goldman N, Shkolnikov VM, Jdanov D, Shkolnikova M, Vaupel JW, *et al*. Perceived stress and biological risk: Is the link stronger in Russians than in Taiwanese and Americans? *Stress*. 2014;16:411-20. <https://doi.org/10.3109/10253890.2013.789015>
49. Kalra S, Einarson A, Karaskov T, Uum Sv, Koren G. The relationship between stress and hair cortisol in healthy pregnant women. *Clin Invest Med*. 2007;30:E100-4. <https://doi.org/10.25011/cim.v30i2.986>
50. O'Brien KM, Tronick EZ, Moore CL. Relationship between hair cortisol and perceived chronic stress in a diverse sample. *Stress Heal*. 2013;29:337-44. <https://doi.org/10.1002/smi.2475>
51. Adler N, Stewart J. The MacArthur Scale of Subjective Social Status. Fecha de consulta: 5 de septiembre de 2017. Disponible en: <https://macses.ucsf.edu/research/psychosocial/subjective.php>
52. Sherbourne CD, Stewart AL. The MOS social support survey. *Soc Sci Med*. 1991;32:705-14.
53. Londoño NH, Rogers HL, Castilla JF, Posada SL, Ochoa NL, Jaramillo MA, *et al*. Validación en Colombia del cuestionario MOS de apoyo social. *Int J Psychol Res*. 2012;5:142-50.
54. Fritz MS, MacKinnon DP. A graphical representation of the mediated effect. *Behav Res Methods*. 2008;40:55-60. <https://doi.org/10.3758/BRM.40.1.55>
55. MacKinnon DP, Lockwood CM, Hoffman JM, West SG, Sheets V. A comparison of methods to test mediation and other intervening variable effects. *Psychol Methods*. 2002;7:83-104. <https://doi.org/10.1037/1082-989X.7.1.83>
56. Freedman LS, Schatzkin A. Sample size for studying intermediate endpoints within intervention trials of observational studies. *Am J Epidemiol*. 1992;136:1148-59.
57. Wasserstein RL, Lazar NA. The ASA's statement on p-values: Context, process, and purpose. *Am Stat*. 2016;70:129-33. <https://doi.org/10.1080/00031305.2016.1154108>
58. Landsbergis PA, Schnall PL, Pickering TG, Warren K, Schwartz JE. Lower socioeconomic status among men in relation to the association between job strain and blood pressure. *Scand J Work Environ Health*. 2003;29:206-15. <https://doi.org/10.5271/sjweh.723>
59. Garay J, Farfán M. Niveles de depresión, autoestima y estrés en mujeres que tienen un trabajo remunerado y mujeres que tienen un trabajo no remunerado (amas de casa). *Psicología Iberoamericana*. 2007;15:22-9.
60. Tang KL, Rashid R, Godley J, Ghali WA. Association between subjective social status and cardiovascular disease and cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2016;6:e010137. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-010137>
61. Demakakos P, Nazroo J, Breeze E, Marmot M. Socioeconomic status and health: The role of subjective social status. *Soc Sci Med*. 2008;67:330-40. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2008.03.038>
62. Baysak B, Yener MI. The relationship between perceived leadership style and perceived stress on hospital employees. *Procedia - Soc Behav Sci*. 2015;207:79-89. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.10.159>
63. Kretchy IA, Owusu-Daaku FT, Danquah S. Locus of control and anti-hypertensive medication adherence in Ghana. *Pan Afr Med J*. 2014;17:1-13.

64. Isaza C.A, Moncada J.C, Mesa G, Osorio FJ. Efectividad del tratamiento antihipertensivo en una muestra de pacientes colombianos. *Biomédica*. 2004;24:273-81. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v24i3.1273>
65. Camacho PA, Gómez-Arbeláez D, Molina DI, Sánchez G, Arcos E, Narváez C, *et al*. Social disparities explain differences in hypertension prevalence, detection and control in Colombia. *J Hypertens*. 2016;34:2344-52. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000001115>

Artículo original

## Polimorfismos de los genes del sistema leptina-melanocortina asociados con la obesidad en la población adulta de Barranquilla

Pilar Garavito<sup>1</sup>, María Isabel Mosquera-Heredia<sup>1</sup>, Luis Fang<sup>1</sup>, Fausto Payares<sup>1</sup>, Marta Ruiz<sup>1</sup>, Isis Arias<sup>1</sup>, Rafael Tuesca<sup>2</sup>, Édgar Navarro<sup>2</sup>, Carlos Silvera-Redondo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación Genética y Medicina Molecular, Departamento de Medicina, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación Proyecto UNI, Departamento de Salud Pública, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

**Introducción.** La obesidad se considera un grave problema de salud pública y por ello se hacen esfuerzos en la búsqueda de genes como el *LEP*, el *LEPR* y el *MC4R* del sistema leptina-melanocortina, el cual opera en la regulación neuroendocrina de la ingestión y el equilibrio energético e influye en la patogenia de la enfermedad. Los resultados contradictorios en torno a la asociación de estos genes con la obesidad plantean la necesidad de nuevas investigaciones.

**Objetivo.** Analizar los polimorfismos rs2167270 del gen *LEP*, rs1137101 del gen *LEPR* y rs17782313 del gen *MC4R* asociados con la obesidad y sus variables clínicas y bioquímicas en una muestra de pacientes adultos de Barranquilla.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 111 personas obesas y 155 no obesas como controles. Los polimorfismos se determinaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. Se tomaron las medidas antropométricas, se evaluó la presión arterial y se hicieron pruebas bioquímicas.

**Resultados.** No se encontraron diferencias estadísticas en la frecuencia alélica y genotípica de los polimorfismos en los grupos estudiados. En cuanto a las variables clínicas y bioquímicas, el genotipo CC del polimorfismo rs17782313 del gen *MC4R*, se asoció con un aumento de la presión arterial sistólica y, el alelo T y su genotipo homocigoto, con una disminución del colesterol HDL en los obesos. No se evidenció ningún efecto de los otros polimorfismos en estas variables.

**Conclusiones** Los polimorfismos rs2167270 del gen *LEP*, rs1137101 del gen *LEPR* y rs17782313 del gen *MC4R*, no se asociaron con obesidad en la población analizada. Se encontró que el polimorfismo rs17782313 del gen *MC4R* influyó en el aumento de la presión arterial sistólica y la disminución del colesterol HDL en las personas obesas.

**Palabras clave:** obesidad/genética; polimorfismo genético.

### Polymorphisms of leptin-melanocortin system genes associated with obesity in an adult population from Barranquilla

**Introduction:** Obesity is considered a serious public health problem. Efforts have been directed to search for candidate genes such as *LEP*, *LEPR*, and *MC4R* involved in the leptin-melanocortin system. The neuroendocrine regulation of these genes on energy intake and balance influences the pathogenesis of this disease. Contradictory results regarding the association of these genes with obesity raise the need for new research.

**Objective:** To analyze the association between obesity and *LEP* rs2167270, *LEPR* rs1137101, and *MC4R* rs17782313 polymorphisms and the clinical and biochemical variables in obese adults from Barranquilla, Colombia.

**Materials and methods:** We analyzed 111 obese adults and 155 non-obese individuals as controls. The polymorphisms were determined by real-time PCR. Besides, anthropometric measures, blood pressure, and biochemical tests were evaluated.

**Results:** No statistical differences were found in allele and genotype frequencies of gene polymorphisms between groups. The CC genotype of *MC4R* rs17782313 polymorphism was associated with increased systolic blood pressure and T allele and TT genotype, with decreased HDL cholesterol in obese adults. The effect of the other polymorphisms on these variables was not evidenced.

**Conclusions:** *LEP* rs2167270, *LEPR* rs1137101, and *MC4R* rs17782313 polymorphisms were not associated with obesity in the population under study. *MC4R* rs17782313 polymorphisms were associated with an increase in systolic blood pressure and a decrease in HDL cholesterol.

**Keywords:** Obesity/genetics; polymorphism, genetic.

**Recibido:** 13/12/2018

**Aceptado:** 21/08/2019

**Publicado:** 28/08/2019

#### Citación:

Garavito P, Mosquera-Heredia MI, Fang L, Payares F, Ruiz M, Arias I, Tuesca R, Navarro É, Silvera-Redondo C. Polimorfismos de los genes del sistema leptina-melanocortina asociados con la obesidad en la población adulta de Barranquilla. *Biomédica*. 2020;40:257-69.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.4827>

#### Correspondencia:

Pilar Garavito, Grupo de Investigación Genética y Medicina Molecular, Departamento de Medicina, Universidad del Norte, Km 5 vía a Puerto Colombia, Barranquilla, Colombia  
Teléfono: (575) 350 9509  
mpgaravi@uninorte.edu.co

#### Contribución de los autores:

Pilar Garavito y Carlos Silvera-Redondo: concepción y diseño del estudio, recopilación de datos, experimentos en el laboratorio  
Rafael Tuesca y Édgar Navarro: concepción y diseño del estudio, recopilación de datos clínicos, revisión de pacientes  
María Isabel Mosquera-Heredia: concepción y diseño del estudio, análisis e interpretación de datos  
Fausto Payares, Marta Ruiz, Isis Arias: recopilación de datos, experimentos en el laboratorio  
Luis Fang: análisis estadístico  
Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

#### Financiación:

Área Estratégica de Salud Global de la Universidad del Norte

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.



La obesidad se considera un grave problema de salud pública a nivel mundial, ya que constituye el principal tipo de malnutrición del adulto. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 2016, más de 1.900 millones de adultos tenían exceso de peso, lo que representa el 39 % de la población, y el 13 % de ellos se consideraban obesos (1).

El gran impacto de la obesidad en la morbilidad y la calidad de vida de los individuos se debe a que constituye un factor de riesgo de diabetes, cardiopatías isquémicas, enfermedades del aparato locomotor y algunos tipos de cáncer (1). Por lo tanto, la comprensión de su etiología y de la forma de regular el peso corporal tiene gran importancia científica, sanitaria y económica.

Un elemento clave esencial para comprender la etiología y la patogenia de la obesidad es el papel del sistema leptina-melanocortinas en el control del almacenamiento de la grasa corporal mediante la regulación coordinada de la conducta alimentaria, el metabolismo, las reacciones neuroendocrinas, el sistema nervioso autónomo y el balance de energía del cuerpo (2).

El gen *LEP* está situado en 7q32.1, mide 20 kb y está constituido por tres exones y dos intrones; codifica para la leptina, una hormona proteica constituida por 167 aminoácidos con peso molecular de 16 kDa, en tanto que su receptor, codificado por el gen *LEPR*, está constituido por 24 exones y se localiza en 1p31.3. Por su parte, el gen *MC4R* se ubica en 18q22, solo tiene un exon y codifica para el receptor 4 de melanocortina.

La leptina es secretada fundamentalmente por el tejido adiposo blanco. Sus concentraciones circulantes son proporcionales al contenido de la grasa corporal (3). Esta hormona atraviesa la barrera hematoencefálica e interactúa con su receptor específico en el núcleo arcuato del hipotálamo y actúa como una señal indicadora de las reservas energéticas. Las POMC/CART y las AGRP/NPY son las poblaciones neuronales del núcleo arcuato que expresan el receptor de la leptina en forma importante. Las primeras, las POMC/CART, conducen señales anorexigénicas mediante los derivados de la proopiomelanocortina (POMC), en tanto que las AGRP/NPY conducen señales orexigénicas mediante el neuropéptido Y (NPY) y la proteína relacionada con agouti (*Agouti-related protein, AgRP*). La ausencia de leptina o la reducción de su concentración provocan una mayor ingestión alimentaria debido a la expresión de AGRP/NPY. En el caso contrario, se promueve la expresión de la POMC, la cual se escinde después de su traducción en péptidos llamados melanocortinas, que actuarían como ligandos endógenos del receptor 4 de melanocortina (MC4R), disminuyendo el apetito (4).

Cuando se reduce la capacidad de la leptina para regular el apetito y el aumento de peso, se desarrolla una resistencia contra ella que puede conducir a la obesidad. Algunos mecanismos implicados en dicha resistencia son los defectos en el transporte de la leptina a través de la barrera hematoencefálica, los defectos en la señalización del receptor de la leptina y las alteraciones en las vías nerviosas involucradas en la regulación de la homeostasis energética (5).

Se ha demostrado que algunos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en los genes *LEP*, *LEPR* y *MC4R*, se relacionan con el fenotipo y los marcadores metabólicos asociados con la obesidad. Se ha sugerido que el polimorfismo rs2167270 del gen *LEP* podría estar asociado con la variación en el aumento de la leptinemia y la propensión a la obesidad (6). Asimismo, el SNP rs1137101 del gen *LEPR* también se ha relacionado con un aumento



en el índice de masa corporal (IMC), hiperleptinemia y predisposición a la resistencia a la leptina (7).

Por su parte, los metaanálisis de estudios de asociación en todo el genoma (*Genome-Wide Association Study*, GWAS) en caucásicos, revelaron que la variante rs17782313 del gen *MC4R* tiene una fuerte asociación con valores elevados del IMC (8) y con la aparición temprana de obesidad grave (9). Estas asociaciones se han replicado en múltiples poblaciones, incluidos niños, adolescentes y adultos. Sin embargo, se han reportado resultados contradictorios alrededor del mundo, lo cual indica la necesidad de adelantar nuevas investigaciones al respecto.

El objetivo del presente estudio fue analizar los polimorfismos rs2167270 del gen *LEP*, rs1137101 del gen *LEPR* y rs17782313 del gen *MC4R* asociados con la obesidad en una muestra de adultos de Barranquilla.

## **Materiales y métodos**

### ***Población y muestra***

Se hizo un estudio descriptivo transversal con análisis de casos y controles, lo que implicó hacer un muestreo poblacional en Barranquilla. Se compararon dos grupos en el rango de edad entre los 20 y los 69 años: los casos eran individuos con obesidad y un IMC de 30 kg/m<sup>2</sup> o mayor, y los sujetos de control tenían un IMC entre 18,5 y 24,9 kg/m<sup>2</sup>.

La población analizada era una muestra de los participantes en el estudio "Salud global: estrategia de investigación aplicada para el estudio y la intervención del síndrome metabólico en Barranquilla." El proceso de selección y la técnica de recolección de datos se describen en la publicación de Giraldo-Castrillón, *et al.* (10).

Para estimar el tamaño de la muestra, se utilizó un porcentaje de 61 % en los polimorfismos de los sistemas genéticos bajo estudio, tomando como referencia la frecuencia del polimorfismo del gen *LEP* (A19G) (11), un nivel de confianza del 95 %, un poder del 80 % y una relación entre casos y controles de 1:1, lo que resultó en 116 participantes en el grupo de los casos y 116 en el de los controles.

Los criterios de exclusión incluyeron embarazo, hipotiroidismo, síndrome de Cushing, hipogonadismo o síndromes monogénicos relacionados con obesidad, así como estar en tratamiento para diabetes o dislipidemia.

Todos los participantes firmaron un consentimiento informado y el estudio se ajustó a los principios éticos de la investigación en seres humanos consignados en la Declaración de Helsinki y la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia. Además, el estudio contó con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad del Norte.

### ***Parámetros clínicos y bioquímicos***

Los parámetros antropométricos de peso, talla, cintura y cadera se tomaron siguiendo los protocolos estandarizados. El IMC se calculó con la fórmula de peso (kg)/talla (m<sup>2</sup>). Se clasificó como individuos con sobrepeso a aquellos con un IMC entre 25 y 29,9 kg/m<sup>2</sup>, y con obesidad, a quienes tenían un IMC mayor o igual a 30 kg/m<sup>2</sup>. Se consideró normal una circunferencia de cintura de menos de 88 centímetros en las mujeres y de menos de 102 centímetros

en los hombres (12). Además, la presión arterial sistólica y la diastólica se midieron en dos momentos diferentes, siguiendo el protocolo de la OMS (13). Los puntos de corte se tomaron del *Eighth Joint National Committee* (JNC 8) para la prevención, detección, evaluación y tratamiento de la hipertensión (14).

A los individuos participantes se les extrajeron 10 ml de sangre total mediante venopunción convencional después de 12 horas de ayuno; 5 ml se recolectaron en un tubo con EDTA para los estudios genéticos y 5 ml en un tubo seco para los estudios bioquímicos utilizando el sistema Vacutainer™. El colesterol total, los triglicéridos y la glucemia se determinaron con métodos enzimáticos fotocolorimétricos comerciales (Biosystems); el cHDL se separó al precipitar selectivamente las lipoproteínas de baja densidad (*low density lipoprotein*, LDL) y de muy baja densidad (*very low density lipoprotein*, VLDL) agregando ácido fosfotúngstico en presencia de iones de magnesio. El cLDL se calculó de forma indirecta empleando la ecuación de Friedewald (15). Los puntos de corte utilizados para la clasificación de la dislipidemia se determinaron a partir de las guías del *Adult Treatment Panel III* (ATP III) (16).

La insulina se determinó mediante quimioluminiscencia (Siemens Medical) y la hemoglobina glucosilada por colorimetría por afinidad al boronato (Nycocard Axis-Shield™) siguiendo las instrucciones de la casa comercial.

### **Extracción del ADN genómico y genotipificación**

El ADN genómico se obtuvo usando el estuche comercial UltraClean Blood™ (MO BIO Laboratories, Inc.), siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante. La cuantificación del ADN se llevó a cabo en un espectrofotómetro NanoDrop 2000™ que, además de los valores de concentración, también aporta los valores de relación 260/280 (ADN/proteínas) y 260/230 (ADN y solventes orgánicos) e información sobre la pureza del producto. Se diluyeron todas las muestras de ADN hasta llevarlas a una concentración de 20 ng/μl y se almacenaron a -20 °C.

Los polimorfismos rs2167270 del gen *LEP*, rs1137101 del gen *LEPR* y rs17782313 del gen *MC4R* se determinaron mediante PCR en tiempo real con el método de discriminación alélica TaqMan PRISM 7500 Real-Time PCR Systems™ (Applied Biosystems) con los ensayos ID C\_15966471\_20, ID C\_8722581\_10 y ID C\_32667060\_10, respectivamente.

La mezcla de amplificación para un volumen final de reacción de 25 μl contenía 20 ng de ADN genómico, 12,5 μl de TaqMan Universal PCR Master Mix™, mezcla que contiene polimerasa AmpliTaq Gold DNA™, AmpErase Uracil N-glicosilasa (UNG), desoxinucleótidos (dNTP) con *desoxiuridina 5'-trifosfato* (dUTP), referencia pasiva (ROX) y solución tampón, así como 1,25 μl de 20X de mezcla para cada uno de los ensayos de genotipificación descritos anteriormente y específica para cada polimorfismo, con 18 μM de cada cebador y 4 μM de cada sonda (VIC/FAM).

Todas las pruebas se hicieron siguiendo un mismo protocolo de amplificación y detección que se iniciaba con un ciclo a 50 °C durante 2 minutos, un ciclo a 95 °C durante 10 minutos, 40 ciclos a 95 °C durante 15 segundos cada uno y un ciclo a 60 °C durante 90 segundos.

Por último, los genotipos se determinaron a partir del resultado de los productos de amplificación observados como curvas de amplificación reconocidas a partir de la marcación para cada sonda (VIC/FAM).

### **Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico, se estimaron las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP estudiados en ambos grupos. Las frecuencias alélicas se usaron para estimar el equilibrio genético de Hardy-Weinberg. El análisis de asociación genética se estimó con el programa Arlequin, versión 3.5.

El análisis de asociación de genotipos se hizo mediante la prueba de ji al cuadrado de Pearson con corrección de Bonferroni para el ajuste del valor de p en el programa estadístico SPSS™, versión 20 (IBM Corp., USA). También, se estimó el riesgo de obesidad asociado con cada genotipo y el alelo mediante el cálculo de la razón de momios (*odds ratio*, OR) y sus correspondientes intervalos de confianza del 95 % usando modelos de regresión logística ajustados por sexo.

Las variables numéricas se expresaron como medianas y rangos intercuartílicos (RIC). Estas variables se compararon en los dos grupos de estudio y entre los polimorfismos mediante las pruebas estadísticas U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis, respectivamente, debido a que no cumplieron con el supuesto de normalidad.

El contraste de las variables categóricas se hizo mediante la prueba de ji al cuadrado de Pearson. A estos datos se les determinó la corrección de Bonferroni del valor de p. La significación estadística se estableció en  $p < 0,05$ .

### **Resultados**

Se incluyeron y compararon dos grupos en el rango de edad entre los 20 y los 69 años: fueron 111 casos con obesidad y un IMC de 30 kg/m<sup>2</sup> o mayor, y 155 de control con un IMC entre 18,5 y 24,9 kg/m<sup>2</sup>.

Estas cantidades corresponden a una disminución del 4,3 % (5 sujetos) en el número de casos y a un incremento de 39 (33,6 %) en el de controles, para evitar la disminución del poder del estudio. Los casos que no participaron abandonaron el estudio por temor a la venopunción y por no haber completado las pruebas bioquímicas.

La edad promedio fue de  $40,8 \pm 12,3$  años entre los casos y de  $35 \pm 12,7$  años entre los controles. En ambos grupos predominó el sexo femenino, con porcentajes del 66,1 y 53,5 %, respectivamente.

En el cuadro 1 se presentan las características clínicas y bioquímicas de la población estudiada, así como las diferencias encontradas al comparar los grupos. La edad, las medidas antropométricas, la glucemia en ayunas, los triglicéridos, la HbA1C y el riesgo cardiovascular global, fueron significativamente mayores en el grupo de los casos.

Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos estudiados, se presentan en el cuadro 2. Se observó que estas frecuencias se mantuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg en el grupo de control, excepto para el polimorfismo del gen *MC4R*. También, se presenta en este cuadro un análisis de asociación de estas frecuencias con la obesidad, el cual no evidenció diferencias estadísticas entre los grupos para ninguno de los SNP estudiados.

Además, se analizó la asociación de los polimorfismos con las medidas antropométricas, la presión arterial y las pruebas bioquímicas en los dos grupos de estudio y se encontró que el genotipo CC del polimorfismo

rs17782313 del gen *MC4R* se asoció con un aumento de la presión arterial sistólica y, el alelo T y su genotipo homocigoto, con una disminución del cHDL, pero solo en el grupo de obesos. No se evidenció asociación de los otros polimorfismos con las variables estudiadas (cuadro 3, figuras 1 y 2).

**Cuadro 1.** Características clínicas y bioquímicas de la población analizada

	Casos (n=111) n (%)		Control (n=155) n (%)		p	OR	IC <sub>95%</sub>
Sexo							
Masculino	41	(36,9)	72	(46,5)		1	---
Femenino	70	(63,1)	83	(53,5)	0,155 <sup>†</sup>	1,48	0,9-2,4
Edad (años)							
Mediana [RIC]	40	(19)	32	[20]	0,00**		
Riesgo cardiovascular							
Muy bajo	11	(9,9)	46	(29,7)		1	---
Bajo	21	(18,9)	28	(18,1)		3,42	1,4-8,2
Alto	79	(71,2)	81	(52,3)	0,00 <sup>††</sup>	5,79	2,3-14,5
Hipertensión							
Normal <120/<80 mm Hg	58	(52,3)	97	(62,6)		1	---
Prehipertenso 120-139/80-89 mm Hg	34	(30,6)	41	(26,5)		1,3	0,7-2,4
HTA-1 140-159/90-99 mm Hg	13	(11,7)	15	(9,7)		1,6	0,7-3,7
HTA-2 >160/>100 mm Hg	6	(5,4)	2	(1,3)	0,14 <sup>†</sup>	5	0,9-26
IMC (kg/m <sup>2</sup> )							
Mediana (RIC)	33,04	(4,76)	22,6	(2,72)	0,00**		
Perímetro braquial (cm)							
Mediana (RIC)	37,5	(5,5)	29	(5)	0,00**		
Perímetro de cintura (cm)							
Mediana (RIC)	105	(14)	81,6	(12,2)	0,00**		
Perímetro de cadera (cm)							
Mediana (RIC)	112	(12,5)	90	(11,2)	0,00**		
Índice cintura-cadera							
Mediana (RIC)	0,94	(0,08)	0,92	(0,07)	0,004**		
Porcentaje de grasa corporal							
Mediana (RIC)	31,4	(18)	25,6	(15)	0,003**		
Glucemia en ayunas (mg/dl)							
Mediana (RIC)	85	(15,5)	83	(15)	0,046**		
Colesterol total (mg/dl)							
Mediana (RIC)	197	(57)	189	(62)	0,492		
Mediana (RIC)							
cLDL (mg/dl)	41	(16)	41	(15)	0,887		
Mediana (RIC)							
VLDL (mg/dl)	125	(49,8)	117,8	(48,4)	0,788		
Mediana (RIC)							
VLDL (mg/dl)	28,4	(22,6)	24,9	(19,05)	0,071		
Mediana (RIC)							
Triglicéridos (mg/dl)							
Mediana (RIC)	144	(120)	123	(94)	0,043**		
Insulina (mUL)							
Mediana (RIC)	4,65	(10,2)	4,15	(7,29)	0,107		
Hb "glucosilada" (%)							
Mediana (RIC)	5,7	(0,9)	5,4	(1)	0,002**		

IMC: índice de masa corporal; cHDL cLDL y VLDL: lipoproteínas de alta, baja y muy baja densidad, respectivamente; T\_SIS\_MED y T\_DIAS\_MED: tensión arterial sistólica y diastólica media, respectivamente

\* p<0,05

RIC: rango intercuartílico

† prueba de ji al cuadrado de Pearson

‡ prueba U de Mann-Whitney

**Cuadro 2.** Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos rs2167270 del gen *LEP*, rs1137101 del gen *LEPR* y rs17782313 del gen *MC4R*

	Casos			Controles			p <sup>†</sup>	OR	IC <sub>95%</sub>
	(n=111)			n=155					
	n	%	H-W <sup>†</sup>	n	%	H-W <sup>†</sup>			
<b>LEP</b>									
rs2167270									
AA	21	18,9		27	17,40				
AG	42	37,8		71	45,80		0,42	0,9	0,4-1,8
GG	48	43,2	0,044*	57	36,80	0,06		0,73	0,4-1,2
G	138	62,2		185	59,7		0,625	1	---
A	84	37,8		125	40,30				
<b>LEPR</b>									
rs1137101									
AA	38	34,2		50	32,30			1	---
AG	49	44,1		70	45,20		0,943	0,89	0,5-1,5
GG	24	21,6	0,33	35	22,60	0,26		0,91	0,4-1,7
A	125	56,3		170	54,80		0,805		
G	97	43,7		140	45,20				
<b>MC4R</b>									
rs17782313									
TT	83	74,8		116	74,80			1	---
CT	25	22,5		32	20,60		0,715	0,58	0,1-2,3
CC	3	2,7	0,44	7	4,50	0,047*		1,07	0,5-1,9
T	191	86		264	85,20		0,875		
C	31	14		46	14,80				

† test de equilibrio de Hardy-Weinberg mejorado con 100.000 pasos de la cadena Markov

‡ razón de verosimilitud de ji al cuadrado; OR (IC<sub>95%</sub>): modelos de regresión logística ajustados por sexo

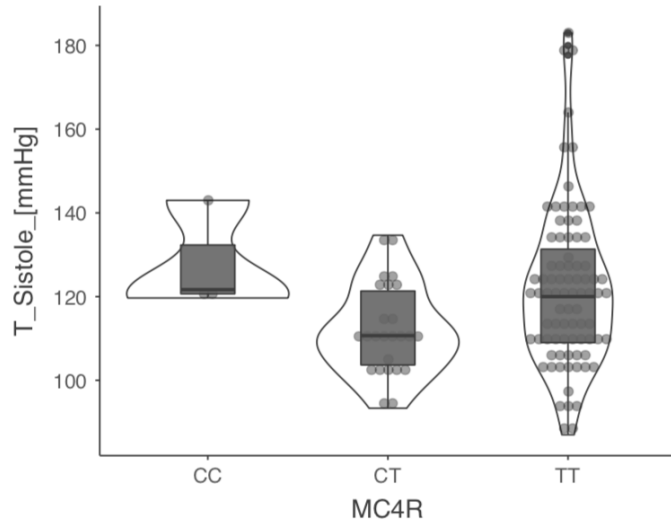
**Cuadro 3.** Asociación de los polimorfismos rs2167270 del gen *LEP*, rs1137101 del gen *LEPR* y rs17782313 del gen *MC4R*, con las variables clínicas y bioquímicas

Grupo de casos	<b>LEP</b>				<b>LEPR</b>				<b>MC4R</b>				p <sup>‡</sup>
	AA (n=21)	AG (n=42)	GG (n=48)	Valor p <sup>‡</sup>	AA (n=38)	AG (n=49)	GG (n=24)	Valor p <sup>‡</sup>	CC (n=3)	CT (n=25)	TT (n=83)	Valor p <sup>‡</sup>	
	Mediana (RIC)	Mediana (RIC)	Mediana (RIC)		Mediana (RIC)	Mediana (RIC)	Mediana (RIC)		Media (DE)	Mediana (RIC)	Mediana (RIC)		
IMC [kg/m <sup>2</sup> ]	32,2 [3,4]	33,1 [6,3]	33,9 [4,6]	0,655	34,01 [5,3]	32,6 [4,1]	32,8 [6,4]	0,530	32,8 [1,5]	33,4 [3,7]	33,04 [5,4]	0,940	
Índice cintura/cadera	0,92 [0,06]	0,95 [0,07]	0,94 [0,07]	0,103	0,95 [0,07]	0,94 [0,07]	0,94 [0,1]	0,812	0,96 [0,07]	0,92 [0,08]	0,95 [0,06]	0,147	
T_SIS_MED (mm Hg)	113,3 [21,5]	117,6 [25,5]	119,8 [20]	0,853	118,6 [14,5]	119,6 [20]	115,5 [35,1]	0,967	128,1 [12,9]	110,6 [18,3]	120 [24,6]	0,025*	
T_DIAS_MED (mm Hg)	71,3 [18,6]	72 [16,7]	75,5 [14]	0,724	76,5 [16,8]	72,6 [13,5]	69,5 [22]	0,832	82 [9,5]	69,6 [11,1]	75,6 [15,6]	0,077	
% grasa corporal	28,1 [15,7]	37,6 [16,5]	30,3 [17,6]	0,089	32,1 [16,6]	29,7 [18]	35,6 [19,5]	0,845	24,5 [8,9]	29,7 [19,5]	31,7 [16]	0,409	
Glucemia (mg/dl)	82 [24,7]	87 [16]	84,5 [14,5]	0,570	83,8 [11,5]	83 [20,5]	88,5 [22,5]	0,077	87,5 [8,2]	82 [16,5]	86 [16]	0,234	
Colesterol (mg/dl)	184 [34]	204 [74,2]	196 [57,7]	0,485	184,5 [55,5]	195 [66,5]	205,5 [51,7]	0,094	175,3 [19,08]	198 [36,5]	197 [69]	0,468	
cHDL (mg/dl)	42 [27]	41 [14,2]	42 [16]	0,524	41 [13,7]	42 [17]	41,5 [14]	0,640	43 [14,7]	49 [18]	41 [15]	0,048*	
cLDL (mg/dl)	112,8 [39,6]	127,3 [51,5]	127,1 [53,4]	0,393	113,1 [56,5]	124,8 [50,4]	133 [39,4]	0,252	103,4 [22,1]	127 [47,8]	124 [57,2]	0,554	
VLDL (mg/dl)	32,6 [23]	27,2 [27,1]	25 [16,5]	0,728	25,2 [19,8]	28,4 [24,9]	29,3 [16,8]	0,951	28,9 [11,5]	28,4 [19,2]	28,8 [25,8]	0,612	
Triglicéridos (mg/dl)	161 [114]	136 [132]	131 [91,7]	0,616	123 [122,3]	146 [116]	146,5 [112,5]	0,861	154,9 [59,4]	145 [96,5]	141 [129]	0,793	
Insulina (mULO)	5,02 [9,4]	3,98 [9,1]	6,64 [11,5]	0,742	4,76 [11,7]	5,52 [9,95]	3,60 [11,07]	0,963	15,3 [13,4]	7,9 [11,5]	3,96 [9,2]	0,157	
HbA1c (%)	5,9 [0,5]	5,8 [1,175]	5,6 [0,9]	0,085	5,75 [1,1]	5,7 [0,7]	5,7 [1,1]	0,660	5,5 [0,28]	5,8 [0,55]	5,7 [1]	0,623	
<b>Grupo de control</b>													
	<b>LEP</b>				<b>LEPR</b>				<b>MC4R</b>				p <sup>‡</sup>
	AA (n=27)	AG (n=71)	GG (n=57)	Valor p <sup>‡</sup>	AA (n=50)	AG (n=70)	GG (n=35)	Valor p <sup>‡</sup>	CC (n=7)	CT (n=32)	TT (n=116)	Valor p <sup>‡</sup>	
	Mediana (RIC)	Mediana (RIC)	Mediana (RIC)		Mediana (RIC)	Mediana (RIC)	Mediana (RIC)		Mediana (RIC)	Mediana (RIC)	Mediana (RIC)		
IMC	22,5 (2,4)	22,2 (3,1)	22,9 (2,4)	0,153	22,9 (2,9)	22,6 (2,6)	22,07 (2,2)	0,151	24,06 (2,01)	22,3 (2,9)	22,6 (2,5)	0,068	
Índice cintura/cadera	0,92 (0,08)	0,92 (0,08)	0,92 (0,07)	0,967	0,90 (0,08)	0,92 (0,08)	0,93 (0,05)	0,356	0,94 (0,10)	0,90 (0,07)	0,92 (0,07)	0,591	
T_SIS_MED	108,3 (26,3)	111,6 (16,6)	114,6 (19,8)	0,304	115 (16,1)	110,6 (22,5)	111,6 (23)	0,682	106,3 (37)	115,5 (25)	112 (16,2)	0,738	
T_DIAS_MED	71,6 (12,6)	72,3 (16,3)	72 (12,5)	0,893	72,5 (14,6)	71,5 (13,5)	72,3 (16,3)	0,580	68,3 (28,3)	73,8 (14,7)	71,8 (13)	0,303	
% grasa corporal	26,8 (13,3)	25,3 (16,9)	26,1 (14,1)	0,953	25,4 (15,3)	25,5 (16,8)	28,4 (14,3)	0,481	25,3 (15)	23,05 (19,2)	26,4 (14,1)	0,685	
Glucemia (mg/dl)	82 (15)	84 (15)	82 (16)	0,832	84,5 (12)	82 (16,7)	84 (16)	0,936	87 (18)	84,5 (15,7)	82 (15)	0,263	
Colesterol (mg/dl)	183 (49)	186 (56)	200 (65,5)	0,547	182 (64,2)	187,5 (53,2)	194 (65)	0,802	173 (75)	175,5 (64,5)	192 (58,5)	0,419	
cHDL (mg/dl)	39 (21)	40 (14)	44 (15,5)	0,561	43 (19,2)	40,5 (15)	40 (13)	0,870	47 (16)	41,5 (17,2)	40,5 (15)	0,716	
cLDL (mg/dl)	112,4 (36,5)	115,6 (45)	120 (65,4)	0,776	113,7 (48,3)	120 (46,3)	118 (64,8)	0,756	114,8 (38,2)	106,4 (52,3)	120 (52,8)	0,391	
VLDL (mg/dl)	23,4 (15,7)	24,1 (18,8)	26 (23)	0,600	26 (19,2)	23,6 (18,9)	27 (21,6)	0,425	22,2 (10,8)	26,4 (16,7)	24,6 (20,4)	0,871	
Triglicéridos (mg/dl)	123 (79)	122 (97)	126 (88,5)	0,969	126,5 (102)	114,5 (93,2)	134 (97)	0,421	111 (54)	131 (70)	121,5 (102)	0,860	
Insulina (mUL)	4,97 (7,1)	3,58 (7,08)	3,91 (7,6)	0,398	4,3 (7,3)	4,55 (6,3)	3,51 (9,6)	0,753	5,56 (8,1)	2,5 (6,8)	4,2 (7,4)	0,897	
HbA1c (mg/dl)	5,6 (1,1)	5,3 (0,8)	5,5 (1,05)	0,081	5,4 (0,95)	5,3 (1,1)	5,4 (1,1)	0,828	5,1 (1,3)	5,2 (0,9)	5,4 (0,97)	0,432	

IMC: índice de masa corporal; cHDL cLDL y VLDL: lipoproteínas de alta, baja y muy baja densidad, respectivamente; T\_SIS\_MED y T\_DIAS\_MED: tensión arterial sistólica y diastólica media, respectivamente

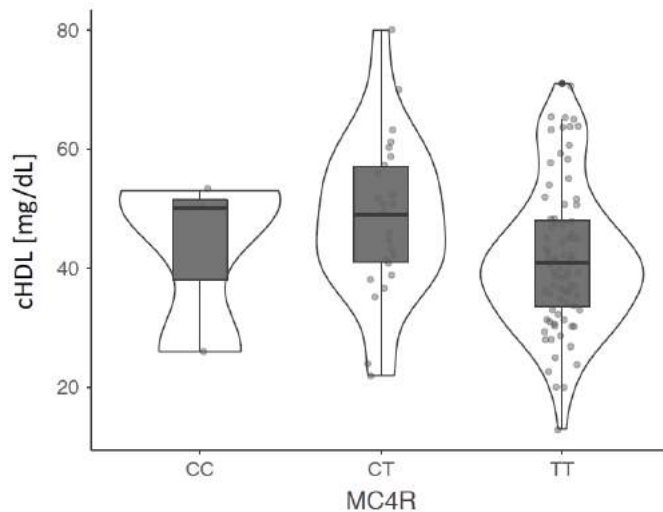
\* p<0,05

‡ prueba U de Mann-Whitney



En los individuos obesos con genotipo CC, hubo un aumento de la tensión arterial sistólica promedio expresado como mediana de 128 (RIC: 12,9), a diferencia de los individuos con genotipos heterocigoto CT (mediana: 110,6; RIC: 18,3) y homocigoto TT (mediana: 120; RIC: 24,6; p: 0,025).

**Figura 1.** Asociación del polimorfismo rs17782313 del gen *MC4R* con la tensión arterial sistólica promedio en el grupo de adultos obesos



En los individuos obesos con genotipo TT hubo una disminución de las concentraciones séricas de HDL (mediana: 41; RIC: 15), a diferencia de los individuos con genotipos CC (mediana: 43; RIC: 14,7) y CT (mediana: 49; RIC: 18; p: 0,048).

**Figura 2.** Asociación del polimorfismo rs17782313 del gen *MC4R* con las concentraciones séricas de HDL en el grupo de adultos obesos

### Discusión

Numerosos estudios se han enfocado en evaluar la presencia de algunos SNP en los genes de las proteínas que participan en el sistema leptina-melanocortina, para dilucidar la propensión genética a la obesidad con base en el papel de este sistema en la mantención del equilibrio entre el estímulo y la inhibición del apetito en función del gasto energético para controlar el peso corporal (17). En este sentido, en todo el mundo se han obtenido resultados contradictorios, ya que la asociación de estos polimorfismos con

el IMC se ve influenciada por la etnia, la ubicación geográfica y los factores medioambientales; de ahí, la necesidad de estudiar la asociación de los polimorfismos rs2167270 del gen *LEP*, rs1137101 del gen *LEPR* y rs17782313 del gen *MC4R* con la obesidad en una población colombiana.

Entre las variantes comunes del gen *LEP*, el polimorfismo rs2167270 ha sido uno de los más frecuentemente asociados con la obesidad. En el *Family Heart Study*, por ejemplo, un haplotipo común (49 %) que incluía este polimorfismo se asoció con un aumento del IMC en población de Estados Unidos (18). Asimismo, en un estudio de sujetos del *Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study (CARDIA)*, este polimorfismo mostró una asociación consistente con tres medidas antropométricas: el peso, el IMC y el perímetro de cintura de sujetos caucásicos (19). Además, Shrutti, *et al.*, encontraron una tendencia al aumento de los niveles del IMC y de leptina con cada adición del alelo A de la variante exónica rs2167270 en una población del sur de India (20). Sin embargo, en el presente estudio la frecuencia de este alelo A fue de 37,8 % en el grupo de casos y de 40,3 % en el grupo control, es decir, no tuvo significación estadística.

A pesar de que se ha reportado una fuerte asociación de este polimorfismo con la obesidad, no es posible sugerir una influencia directa de dicha variante en la expresión de la leptina y su función en la fisiopatología de la obesidad, ya que se encuentra dentro del primer exón no traducido del gen. Sin embargo, se puede sugerir que al estar en desequilibrio de ligamiento con el polimorfismo del promotor (rs7799039), rs2167270 puede tener un efecto sobre la transcripción del gen *LEP* (21).

En cuanto al polimorfismo rs1137101 del gen *LEPR*, se ha reportado que su genotipo GG se asoció con un menor riesgo de obesidad (OR=0,26; IC<sub>95%</sub> 0,08-0,79) (p=0,018), pues redujo el IMC en 2,44 kg/m<sup>2</sup> en individuos del sur de Chile (22). Asimismo, Chavarría-Ávila, *et al.*, han señalado que el alelo G podría ser un marcador genético asociado con una menor acumulación de grasa corporal en la población del oeste mexicano (23). En este sentido, la frecuencia del alelo G en nuestra población fue predominante (45,2 %) en el grupo con peso normal (p>0,05), lo cual es similar a lo encontrado en poblaciones de Chile y México. Por su parte, el genotipo AA se asoció significativamente con la obesidad en voluntarios de Túnez (OR=1,41; IC<sub>95%</sub> 1,035-1,85) (p=0,045) (24).

En el presente estudio, la frecuencia de este genotipo predominó en el grupo de obesos (p>0,05). Por el contrario, De Oliveira, *et al.*, reportaron una fuerte asociación del genotipo GG con el exceso de peso en población brasilera (OR=2,14, IC<sub>95%</sub> 1,01-4,52) (p=0,047) (25), al igual que Mărginean, *et al.*, quienes concluyeron que los sujetos portadores de los genotipos GG o AG tenían 3,06 veces más riesgo de desarrollar obesidad en comparación con los portadores de AA (OR=3,06; IC<sub>95%</sub> 1,70-5,51) (p=0,0001) (26).

Estas discrepancias de los polimorfismos de *LEP* y *LEPR* también se evidenciaron en un metaanálisis del 2015 de Ghalandari, *et al.* (27). De los diecisiete artículos revisados, nueve informaban sobre una asociación significativa, o los consideraban como posibles factores de riesgo; sin embargo, no se encontró esta relación en los ocho estudios restantes, que incluían, entre otras, poblaciones de Brasil y México con resultados similares a los del presente estudio.

Lo mismo sucede con el polimorfismo rs17782313 del gen *MC4R*, el cual se ha asociado con un elevado IMC (8,28,29) y con la aparición temprana de obesidad grave (9). Se ha sugerido que los portadores del genotipo TT de este polimorfismo tienen un nivel notablemente mayor de hipermetilación en el promotor de *MC4R* en comparación con los portadores de los genotipos CT y CC, lo que puede contribuir a regular la expresión de *MC4R* y, por consiguiente, al desarrollo de la obesidad (30). Sin embargo, en otros estudios no se ha podido demostrar la asociación de este polimorfismo con la obesidad, como es el caso de las investigaciones en población polaca y africana (8,31). En este sentido, un hallazgo notable del presente estudio es que el genotipo TT fue igual en los casos y los controles.

En resumen, el análisis genético del presente estudio, comparado con los de otras poblaciones, evidenció la falta de asociación de los polimorfismos con la obesidad, resultados que se explicarían porque las poblaciones están expuestas a diferentes factores medioambientales o de estilo de vida, y ello es fundamental para determinar la influencia de cada polimorfismo en la obesidad. Se hace necesario analizar la interacción entre polimorfismo y ambiente para aclarar la contribución de estas variantes genéticas al desarrollo de la obesidad.

Así como en este estudio, otros investigadores han evaluado la influencia de estos polimorfismos en las variables clínicas y bioquímicas relacionadas con la obesidad. En cuanto al perfil de lipoproteínas, se pudo demostrar que los portadores del alelo G del polimorfismo rs1137101 del gen *LEPR* tenían niveles más bajos de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en el sur de Chile (22), y niveles más elevados de colesterol total, pero más reducidos de cHDL en sujetos de Túnez (32). Por su parte, el alelo C del polimorfismo rs17782313 del gen *MC4R* se ha asociado con una disminución de la lipoproteína antiaterogénica en mujeres italianas con diabetes gestacional y mujeres sanas de China (33,34), resultado similar al reportado en escolares mexicanos (OR=2,99, IC<sub>95%</sub> 1,93-4,64) ( $p < 0,0001$ ). Por el contrario, en el presente estudio se encontró una asociación estadística del alelo T y el genotipo homocigoto de este polimorfismo con una disminución del cHDL en el grupo de casos.

En cuanto a las variables relacionadas con el metabolismo de la glucosa, Yang, *et al.*, informaron que el polimorfismo rs1137101 del gen *LEPR* se asoció con cifras elevadas de HbA1C (34), y Boumaiza, *et al.*, demostraron su asociación con un aumento de glucemia basal e insulinemia en voluntarios de Túnez (32). Asimismo, Garcés, *et al.*, concluyeron en su estudio que el genotipo A/A de este polimorfismo confería a los niños obesos que lo portaban 2,6 veces más riesgo de desarrollar resistencia a la insulina que aquellos con los genotipos G/G y A/G (35). Además, se pudo demostrar que esta variante genética puede considerarse como un factor de riesgo significativo para la diabetes mellitus de tipo II en sujetos de Malasia (36).

Estos polimorfismos también se han asociado con la presión arterial, pero no se ha encontrado significación estadística en dicha relación en algunas poblaciones. Así, Fan, *et al.*, no encontraron una asociación del polimorfismo rs2167270 del gen *LEP* en una población multiétnica de Malasia (37), así como tampoco se observó la influencia de rs17782313 del gen *MC4R* en la presión arterial de mujeres chinas (34). En contraste, el alelo A del polimorfismo rs1137101 del gen *LEPR* se asoció con una elevación de la presión arterial sistólica (37) en sujetos brasileños hipertensos, en quienes se evidenció que los valores fueron significativamente menores en los hombres



portadores de genotipos con, al menos, una copia del alelo C de rs17782313 del gen *MC4R* (38). En concordancia con estos resultados, el análisis genético del presente estudio demostró que el genotipo CC del polimorfismo rs17782313 del gen *MC4R* se asoció con un aumento de la presión arterial sistólica en el grupo de obesos.

Aunque los mecanismos que vinculan la obesidad con la hipertensión no han sido completamente aclarados, se sabe que el aumento de la actividad simpática del sistema nervioso central contribuye a la elevación de la presión arterial en los sujetos obesos. La evidencia indica que la leptina y el sistema de melanocortina, incluidos los receptores 4 de la melanocortina (*MC4R*), juegan un papel clave en la relación de la obesidad con el aumento de la actividad del sistema nervioso central y la hipertensión, lo cual representa un objetivo importante para el tratamiento de la obesidad y sus consecuencias metabólicas y cardiovasculares (39).

Este trabajo se vio limitado por el tamaño de la muestra, por lo que se recomienda hacer estudios con una muestra más grande que permita un análisis estadístico con mayor poder.

En conclusión, los polimorfismos rs2167270 del gen *LEP*, rs1137101 del gen *LEPR* y rs17782313 del gen *MC4R* no se asociaron con la obesidad en la población analizada. El polimorfismo rs17782313 del gen *MC4R* fue el único que se asoció con el aumento de la presión arterial sistólica y con la disminución del cHDL en sujetos con obesidad.

## Referencias

1. Organización Mundial de La Salud. Obesidad y sobrepeso. Nota descriptiva - 2018. Fecha de consulta: 25 de julio de 2018. Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404:661-71. <https://doi.org/10.1038/35007534>
3. Farooqi IS, O'Rahilly S. Leptin: A pivotal regulator of human energy homeostasis. *Am J Clin Nutr*. 2009;89:980S-4. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26788C>
4. Santos J. Sistema leptina-melanocortinas en la regulación de la ingesta y el peso corporal. *Rev Med Chile*. 2009;137:1225-34. <http://doi.org/10.4067/S0034-98872009000900014>
5. Wauman J, Tavernier J. Leptin receptor signaling: Pathways to leptin resistance. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2011;17:2771-93.
6. Dasgupta S, Salman M, Siddalingaiah LB, Lakshmi G, Xaviour D, Sreenath J. Genetic variants in leptin: Determinants of obesity and leptin levels in South Indian population. *Adipocyte*. 2015;4:135-40. <https://doi.org/10.4161/21623945.2014.975538>
7. Hassan N, El-Masry S, Zarouk W, El Banna R, Mosaad R, Al-Tohamy M, *et al*. Obesity phenotype in relation to gene polymorphism among samples of Egyptian children and their mothers. *Genes Dis*. 2017;5:150-7. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2017.12.004>
8. Xi B, Chandak GR, Shen Y, Wang Q, Zhou D. Association between common polymorphism near the *MC4R* gene and obesity risk: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7:e45731. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045731>
9. Meyre D, Delplanque J, Chèvre JC, Lecoœur C, Lobbens S, Gallina S, *et al*. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nat Genet*. 2009;41:157-9. <https://doi.org/10.1038/ng.301>
10. Giraldo-Castrillón Y, Muñoz F, Navarro-Lechuga E, Segura-Cardona Á. Factores de riesgo para disfunción sistólica ventricular izquierda en adultos de un programa de salud global. *Rev Cuid*. 2017;8:1519-28. <https://doi.org/10.15649/cuidarte.v8i1.371>
11. Mattevi VS, Zembrzuski VM, Hutz MH. Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *Int J Obes*. 2002;26:1179-85. <http://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802067>

12. World Health Organization. Obesity, preventing and managing the global epidemic-report of a WHO consultation on obesity - 1997. Fecha de consulta: 14 de octubre de 2018. Disponible en: [https://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO\\_TRS\\_894/en/](https://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/)
13. Organización Mundial de la Salud. Información general sobre la hipertensión arterial en el mundo - 2013. Fecha de consulta: 14 de octubre de 2018. Disponible en: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/87679/WHO\\_DCO\\_WHD\\_2013.2\\_spa.pdf;jsessionid=87D07D18DA6FA31420743611C3BE7176?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/87679/WHO_DCO_WHD_2013.2_spa.pdf;jsessionid=87D07D18DA6FA31420743611C3BE7176?sequence=1)
14. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, *et al.* 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: Report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA*. 2014;311:507-20. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.284427>
15. Friedewald WT, Levin RY, Fredrickson DS. Estimations of the concentration of c-LDL in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18:499-507.
16. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106:3143-421.
17. González E, Aguilar MJ, Padilla C, García I. Obesidad monogénica humana: papel del sistema leptina-melanocortina en la regulación de la ingesta de alimentos y el peso corporal en humanos. *Anales Sis San Navarra*. 2012;35:285-93. <https://doi.org/10.4321/S113766272012000200010>
18. Jiang Y, Wilk JB, Borecki I, Williamson S, DeStefano AL, Xu G, *et al.* Common variants in the 5' region of the leptin gene are associated with body mass index in men from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am J Human Genet*. 2004;75:220-30. <https://doi.org/10.1086/422699>
19. Friedlander Y, Li G, Fornage M, Williams O, Lewis C, Schreiner C, *et al.* Candidate genes from molecular pathways related to appetite regulatory neural network and adipocyte homeostasis and obesity: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Ann Hum Genet*. 2010;74:387-98. <https://doi.org/10.1111/j.14691809.2010.00596.x>
20. Dasgupta S, Salman M, Siddalingaiah LB, Lakshmi G, Xaviour D, Sreenath J. Genetic variants in leptin: Determinants of obesity and leptin levels in South Indian population. *Adipocyte*. 2015;4:135-40. <https://doi.org/10.4161/21623945.2014.975538>
21. Li WD, Reed DR, Lee JH, Xu W, Kilker RL, Sodam BR, *et al.* Sequence variants in the 5' flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women. *Ann Hum Genet*. 1999;63:227-34. <https://doi.org/10.1046/j.1469-1809.1999.6330227.x>
22. Manríquez V, Avilés J, Salazar L, Saavedra N, Serón P, Lanás F, *et al.* Polymorphisms in genes involved in the leptin-melanocortin pathway are associated with obesity-related cardiometabolic alterations in a Southern Chilean population. *Mol Diagn Ther*. 2018;22:101-13. <https://doi.org/10.1007/s40291-017-0306-8>
23. Chavarría-Ávila E, Vázquez-Del Mercado M, Gómez-Bañuelos E, Ruiz-Quezada SL, Castro-Albarrán J, Sánchez-López L, *et al.* The impact of LEPG-2548A and LEPR Gln223Arg polymorphisms on adiposity, leptin, and leptin-receptor serum levels in a Mexican Mestizo population – 2015. *Biomed Res Int*. 2015;2015:539408. <https://doi.org/10.1155/2015/539408>
24. Nesrine Z, Haithem H, Imen B, Fadoua N, Asma O, Fadhel N, *et al.* Leptin and leptin receptor polymorphisms, plasma leptin levels and obesity in Tunisian volunteers. *Int J Exp Path*. 2018;99:121-30. <https://doi.org/10.1111/iep.12271>
25. De Oliveira R, Cerda A, Dalla F, Feraz M, Armaganijan D, Silveira M, *et al.* Leptin receptor gene polymorphisms are associated with adiposity and metabolic alterations in Brazilian individuals. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2013;57:677-84. <https://doi.org/10.1590/S000427302013000900002>
26. Mărginean CO, Mărginean C, Voidăzan S, Meliț L, Crauciuc A, Duicuet C, *et al.* Correlations between leptin gene polymorphisms 223 A/G, 1019 G/A, 492 G/C, 976 C/A, and anthropometrical and biochemical parameters in children with obesity. A prospective case-control study in a Romanian population—The Nutrichild Study. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95:e3115. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000003115>
27. Ghalandari H, Hosseini-Esfahani F, Mirmiran P. The association of polymorphisms in leptin/leptin receptor genes and ghrelin/ghrelin receptor genes with overweight/obesity and the related metabolic disturbances: A review. *Int J Endocrinol Metab*. 2015;13:e19073. <https://doi.org/10.5812/ijem.19073v2>

28. García-Solís P, Reyes-Bastidas M, Flores K, García O, Rosado J, Méndez-Villa L, *et al.* Fat mass obesity-associated (FTO) (rs9939609) and melanocortin 4 receptor (*MC4R*) (rs17782313) SNP are positively associated with obesity and blood pressure in Mexican school-aged children. *Br J Nutr.* 2016;116:1834-40. <https://doi.org/10.1017/S0007114516003779>
29. Almeida SM, Furtado JM, Mascarenhas P, Ferraz M, Ferreira J, Monteiro M, *et al.* Association between *LEPR*, *FTO*, *MC4R*, and *PPARG-2* polymorphisms with obesity traits and metabolic phenotypes in school-aged children. *Endocrine.* 2018;60:466-78. <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1587-3>
30. Tang Y, Jin B, Zhou L, Lu W. MeQTL analysis of childhood obesity links epigenetics with a risk SNP rs17782313 near *MC4R* from meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8:2800-6. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13742>
31. Leońska-Duniec A, Jastrzębski Z, Zarębska A, Smółka W, Cięszczyk P. Impact of the polymorphism near *MC4R* (rs17782313) on obesity- and metabolic-related traits in women participating in an aerobic training program. *J Hum Kinet.* 2017;58:111-9. <https://doi.org/10.1515/hukin-2017-0073>
32. Boumaiza I, Omezzine A, Rejeb J, Rebhi L, Ben Rejeb N, Nabli N, *et al.* Association between four *resistin* polymorphisms, obesity, and metabolic syndrome parameters in Tunisian volunteers. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2012;16:1356-62. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2012.0156>
33. Franzago M, Fraticelli F, Nicolucci A, Celentano C, Liberati M, Stuppia L, *et al.* Molecular analysis of a genetic variants panel related to nutrients and metabolism: association with susceptibility to gestational diabetes and cardiometabolic risk in affected women. *J Diabetes Res.* 2017;2017:4612623. <https://doi.org/10.1155/2017/4612623>
34. Yang J, Gao Q, Gao X, Tao X, Cai H, Fan Y, *et al.* Melanocortin-4 receptor rs17782313 polymorphisms are associated with serum triglycerides in older Chinese women. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2016;25:213-9. <https://doi.org/10.6133/apjcn.2016.25.1.18>
35. Garcés MF, Gómez B, Stekman H, Hernández C, López A, Soto de Sanabria I. Polimorfismos G2548A del gen de leptina y GLN223ARG del gen del receptor de leptina en pre-púberes con riesgo cardiometabólico. *Arch Venez Puer Ped.* 2016;79:54-61.
36. Etemad A, Ramachandran V, Pishva SR, Heidari F, Aziz A, Yusof A, *et al.* Analysis of *Gln223Arg* polymorphism of leptin receptor gene in type II diabetic mellitus subjects among Malaysians. *Int J Mol Sci.* 2013;14:19230-44. <https://doi.org/10.3390/ijms140919230>
37. Fan S-H, Say Y-H. Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and their association with plasma leptin levels and obesity in a multi-ethnic Malaysian suburban population. *J Physiol Anthropol.* 2014;33:15. <https://doi.org/10.1186/1880-6805-33-15>
38. Marcadenti A, Fuchs FD, Matte U, Sperb F, Moreira LB, Fuchs SC. Effects of *FTO* RS9939906 and *MC4R* RS17782313 on obesity, type 2 diabetes mellitus and blood pressure in patients with hypertension. *Cardiovasc Diabetol.* 2013;12:103. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-12-103>
39. Do Carmo JM, da Silva AA, Dubinion J, Sessums PO, Ebaady S, Wang Z, *et al.* Control of metabolic and cardiovascular function by the leptin-brain melanocortin pathway. *IUBMB Life.* 2013;65:692-8. <https://doi.org/10.1002/iub.1187>

Artículo original

## Análisis de costo-efectividad del uso del programa VECTOS en el control rutinario de enfermedades transmitidas por *Aedes aegypti* en dos municipios de Santander, Colombia

Manuel Alejandro Salinas, Victoria Eugenia Soto, Sergio Iván Prada

Centro de Estudios en Protección Social y Economía de la Salud, PROESA, Universidad Icesi, Cali, Colombia

**Introducción.** Las enfermedades transmitidas por *Aedes aegypti* son un problema de salud pública. VECTOS es un programa novedoso de integración de estrategias de control de vectores.

**Objetivo.** Evaluar el costo-efectividad del uso del VECTOS en los programas de control rutinario de enfermedades transmitidas por el vector *Aedes aegypti* en el municipio de San Juan de Girón (Santander).

**Materiales y métodos.** Se evaluó el costo-efectividad del programa empleando un modelo de análisis de decisiones desde la perspectiva de las autoridades locales de salud. Se estudió la integración de las estrategias de control de vectores mediante el programa VECTOS utilizado en el municipio de San Juan de Girón durante el 2016, con el control rutinario llevado a cabo sin VECTOS en el municipio de Floridablanca. Se calculó la razón incremental del costo-efectividad (RICE), usando como medida de efectividad los años de vida ajustados por discapacidad (AVAD).

**Resultados.** El uso del programa VECTOS fue rentable a una tasa de ahorro de USD\$ 660,4 por cada AVAD evitado en comparación con el control de rutina en Floridablanca. El modelo probabilístico indicó que el sistema fue costo-efectivo en el 70 % de las 10.000 iteraciones para un umbral entre 1 y 3 PIB per cápita.

**Conclusiones.** El programa VECTOS fue muy costo-efectivo en el municipio de San Juan de Girón. Su uso puede adoptarse en otros municipios del país donde las enfermedades transmitidas por *A. aegypti* son endémicas.

**Palabras clave:** *Aedes aegypti*; dengue; control de vectores; análisis costo-beneficio; programas informáticos.

### Cost-effectiveness analysis of VECTOS software for the control of diseases transmitted by *Aedes aegypti* in two Colombian municipalities

**Introduction:** Diseases transmitted by *Aedes aegypti* are considered a public health problem. VECTOS is a novel software for the integration of vector control strategies.

**Objective:** To assess the cost-effectiveness of the use of VECTOS in the routine control programs of diseases transmitted by *A. aegypti* in the municipality of San Juan de Girón (Santander).

**Materials and methods:** We conducted a cost-effectiveness analysis using a decision analysis model from the perspective of the local health authorities. We considered the use of the VECTOS software in the routine control activities in the municipality of San Juan de Girón during 2016 as the treatment group while the routine control in the municipality of Floridablanca, where VECTOS is not implemented, was considered as the comparator. We calculated the incremental cost-effectiveness ratio (ICER) taking as effectiveness measure the disability-adjusted life years (DALY).

**Results:** VECTOS was cost-effective at a rate of USD\$ 660,4 savings per each DALY avoided compared to the routine control in Floridablanca. The probabilistic model showed that the system was cost-effective in 70% of the 10.000 iterations for a threshold between 1 to 3 GDP per capita.

**Conclusions:** VECTOS software as implemented in the municipality of San Juan de Girón is highly cost-effective and could be used in other municipalities in the country where diseases transmitted by *A. aegypti* are endemic.

**Keywords:** *Aedes aegypti*; dengue; vector control; cost-benefit analysis; software.

**Recibido:** 22/08/2018

**Aceptado:** 22/08/2019

**Publicado:** 27/08/2019

#### Citación:

Salinas MA, Soto VE, Prada SI. Análisis de costo-efectividad del uso del programa VECTOS en el control rutinario de enfermedades transmitidas por *Aedes aegypti* en dos municipios de Santander, Colombia. Biomédica. 2020;40:270-82.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.4658>

#### Correspondencia:

Manuel Alejandro Salinas, Calle 32a No 33a-20, Palmira, Colombia  
Teléfono: (571) (317) 753 6893  
[manuelalis@hotmail.com](mailto:manuelalis@hotmail.com)

#### Contribución de los autores:

Todos los autores participaron en la concepción y el diseño del estudio, en la recolección e interpretación de los datos analizados y en la escritura del manuscrito.

#### Financiación:

Este proyecto fue financiado en el marco del programa "Desarrollo de investigación aplicada para contribuir a un modelo efectivo y sostenible de intervención del dengue en Santander, Casanare y Valle del Cauca", por el Sistema General de Regalías, Fondo de Ciencia, Tecnología e Innovación (Acuerdo 009 de 2013).

#### Conflicto de intereses:

Los autores manifiestan no tener ningún tipo de conflicto de intereses.

*Aedes aegypti* es el principal vector transmisor de dengue, Zika y chikungunya en Colombia. Estas enfermedades representan un grave problema de salud pública en el país; en el 2016, cerca de 103.822 personas contrajeron el virus del dengue (1) y, en el 2010, 151.774 personas, siendo este el peor año en la última década (2). Cerca del 55 % de la población colombiana se encuentra en riesgo de contraer estas enfermedades o morir a causa de ellas, pues *A. aegypti* está presente en zonas que se encuentran por debajo de los 2.200 msnm (3).

En términos económicos, el costo del dengue en el país se cuantificó, aproximadamente en USD\$167 millones en el 2010, con un registro de 292 muertes confirmadas en ese año y una carga estimada en 57.017 años de vida ajustados por discapacidad (AVAD) (4).

El Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), junto con la Corporación para la Investigación de la Corrosión (CIC) y las secretarías de salud de San Juan de Girón (Santander), Yopal (Casanare) y Buga (Valle), desarrollaron un sistema integrado de gestión cuyo producto principal es el programa llamado VECTOS.

Este programa permite visualizar la información epidemiológica, entomológica y social georreferenciada diariamente, así como emitir alertas tempranas por barrio y hacer un análisis estratificado del riesgo según los índices de infestación, los casos reportados y el número de criaderos, entre otras variables. Dicha información busca responder a los diversos factores determinantes de transmisión del dengue en los contextos locales mediante el análisis y la evaluación de las variables epidemiológicas, entomológicas y sociales asociadas con su transmisión, con el fin de facilitar la toma de decisiones informadas y, así, facilitar el diseño de estrategias de prevención y control del dengue.

El objetivo de este estudio fue analizar el costo-efectividad del programa VECTOS, diseñado para integrar las estrategias de control rutinario de vectores, en el municipio de San Juan de Girón (Santander) durante el 2016. Este programa se comparó con el control rutinario del municipio de Floridablanca, de características similares a las de Girón, en donde no se usó VECTOS, pero también se planean y ejecutan las estrategias de control vectorial según las directrices de las guías del Instituto Nacional de Salud.

## **Materiales y métodos**

En los estudios de costo-efectividad, es usual establecer la pregunta de evaluación económica mediante la estrategia denominada PICOT (población, intervención, control, *outcome* o resultado y tiempo) (5). A continuación, se define cada uno de los elementos empleados en la pregunta de evaluación económica.

### ***Población***

VECTOS se diseñó para las cabeceras urbanas de los municipios donde el dengue es una enfermedad endémica. En este estudio, en particular, se empleó la información recolectada en Girón, municipio donde se ha usado el programa VECTOS desde el 2015. San Juan de Girón se ubica en el departamento de Santander y su cabecera urbana tenía 170.917 habitantes en el 2016 (6).

### **Perspectiva del análisis**

Se adoptó la perspectiva del municipio, dado que VECTOS está concebido como un sistema de planeación y focalización local. La autoridad de salud local es responsable de reducir la morbilidad de las enfermedades transmitidas por *A. aegypti* y la disponibilidad local de recursos es limitada. En este marco, los costos que se deben tener en cuenta son los empleados por las secretarías de salud de los entes territoriales en la planeación y ejecución de sus programas de control vectorial.

### **Intervención**

VECTOS es un programa integrado de análisis y estratificación de las variables epidemiológicas, entomológicas y sociales asociadas con la transmisión de dengue. El programa facilita la adopción de decisiones informadas mediante la visualización georreferenciada de la información recolectada diariamente, con una interfaz que permite emitir alertas tempranas por barrio y hacer el análisis estratificado del riesgo, según los índices de infestación, los casos reportados y el número de criaderos, entre otras variables. Ello contribuye al diseño y evaluación de las estrategias de prevención y control de las enfermedades transmitidas por *A. aegypti* en contextos locales.

El programa integra esta información y genera indicadores de estratificación del riesgo para el barrio, visualizándolos de forma georreferenciada en tiempo real, lo que permite a las autoridades adoptar estrategias de control focalizadas en los barrios o comunas y según los factores de riesgo preponderantes en cada localidad.

La información entomológica es recolectada mediante la aplicación móvil SPECTRA que está integrada con VECTOS y permite el ingreso directo de los datos al sistema por parte de los técnicos del municipio encargados de los levantamientos entomológicos. La aplicación tiene en cuenta la productividad de los mosquitos por hogar mediante el conteo de pupas y la detección de larvas en los recipientes de agua (índice de Breteau). Además, caracteriza los contenedores de agua en los hogares para determinar los factores de riesgo en el hogar y extrapolarlos a la unidad espacial del barrio.

El programa capta los datos epidemiológicos suministrados al Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila). Las secretarías municipales de salud tienen la función de recolectar el reporte de los casos de interés en salud pública entregado por los prestadores de servicios de salud, información que es compilada e ingresada semanalmente al Sivigila y al sistema VECTOS, el cual se encarga de depurar la información, caracterizarla por caso y georreferenciarla por barrio con base en la dirección reportada. El componente social del sistema obtiene información de las encuestas realizadas por los técnicos en la visita a los hogares. La encuesta busca capturar información sobre las condiciones socioeconómicas de riesgo, como estado de la vivienda, acceso a los servicios públicos y hacinamiento, entre otros.

Una vez integrados estos componentes, el programa estratifica el riesgo por barrio y sugiere qué estrategias se deben implementar en cada uno, con base en los factores de riesgo de transmisión. Asimismo, prioriza las estrategias de control implementadas en el municipio según si el riesgo proviene de la presencia de criaderos, potenciales criaderos y vectores adultos, de la incidencia de enfermedades o de las condiciones sociales de



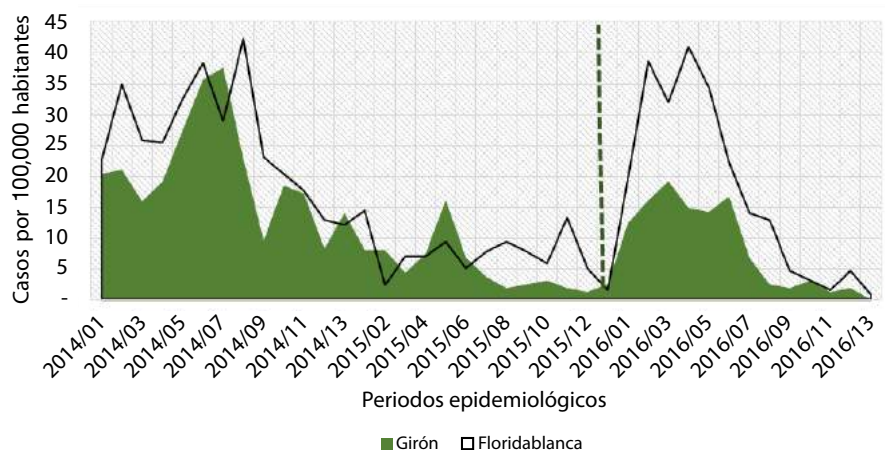
los hogares. Las estrategias implementadas en ambos municipios fueron las recomendadas en la guía del Instituto Nacional de Salud y el Ministerio de Salud y Protección Social, las cuales incluyen la eliminación de criaderos, la intervención de focos específicos (por ejemplo, tanques altos y sumideros) y el control químico del vector en la etapa larval y la adulta, incluida la entrega de mosquiteros tratados con insecticida en Girón. También, se hicieron campañas educativas e informativas de prevención en barrios e instituciones prestadoras de servicios de salud (IPS), y a poblaciones vulnerables.

El programa incluye una interfaz intuitiva y de fácil manejo; está diseñado para ser usado por los coordinadores de los programas de enfermedades transmitidas por vectores (ETV) de los municipios y tiene un módulo de consulta que los secretarios de salud o el personal involucrado en las estrategias de control de las enfermedades transmitidas por vectores pueden usar.

### Control

VECTOS se comparó con el programa rutinario de control vectorial de Floridablanca, donde no se usó VECTOS, pero sí se utilizaron las estrategias de control de las enfermedades transmitidas por vectores contempladas en las guías del Instituto y la información entomológica y epidemiológica que se recolecta localmente. Este municipio, a 1 km de Bucaramanga, limita con Girón y, al igual que este, hace parte del área metropolitana de la ciudad. Su población proyectada en cabeceras urbanas es de 257.265 habitantes (7).

En la figura 1 se ilustra el comportamiento temporal de la incidencia del dengue por cien mil habitantes en los dos municipios evaluados, aparentemente con un alto grado de correlación entre ellos en el periodo de enero de 2014 a diciembre de 2016 (coeficiente de correlación de Pearson de 0,802). En cuanto a la magnitud de la incidencia, en el periodo entre el 2014 y el 2015, el comportamiento de las incidencias fue similar, con un nivel de confianza del 95 % ( $t=1,8709$ ,  $gl=25$ ) ( $p=0,07$ ), en tanto que, durante el 2016, se presentó una divergencia entre febrero y mayo, siendo la incidencia significativamente mayor en el municipio de comparación, con un nivel de confianza del 95 % ( $t=3,2736$ ,  $gl=12$ ) ( $p=0,007$ ).



**Figura 1.** Incidencia del dengue (2014-2016) en el municipio de Girón (área verde) intervenido con el programa VECTOS e intervenciones rutinarias de control en el municipio de Floridablanca (línea negra, control). La línea vertical punteada indica el mes de enero de 2016, cuando se empezó a usar VECTOS en el municipio de Girón. Fuente de datos: Sivigila

### Resultado final

En el estudio se consideraron los AVAD derivados de los casos reportados de dengue y muertes por dengue como resultado final. La ecuación 1 muestra el cálculo empleado para estimar esta variable:  $AVAD = AVP + AVD$ , donde AVP es años de vida perdidos y AVD, años vividos con discapacidad.

Para el cálculo de los años de vida perdidos se empleó la ecuación 2:

$$AVP = N C e^{(ra)} / (\beta+r)^2 [e^{-(\beta+r)(L+a)} [-(\beta+r)(L+a)-1] - e^{-(\beta+r)a} [-(\beta+r)a-1]]$$

Los años vividos con discapacidad se calcularon mediante la ecuación 3:

$$AVD = 1 DW C e^{(ra)} / (\beta+r)^2 [e^{-(\beta+r)(L+a)} [-(\beta+r)(L+a)-1] - e^{-(\beta+r)a} [-(\beta+r)a-1]]$$

donde para la ecuación, 2 N corresponde al número de muertes por dengue, mientras que para la ecuación 3, I corresponde al número de casos incidentes; DW, al ponderador de discapacidad, y para ambas ecuaciones C, a la constante correctora del ponderador de edades; r, a la tasa de descuento;  $\beta$ , al parámetro de la función ponderadora de edades; a, a la edad de inicio de síntomas, y L, a los días perdidos por discapacidad o por muerte prematura.

No se tuvo en cuenta la información reportada sobre casos de Zika y chikungunya, dado que en Colombia no se dispone de información sobre la carga de estas enfermedades causadas, además, por virus introducidos en el país recientemente. Se emplearon los parámetros estimados en un estudio sobre la carga de enfermedad del dengue para Colombia (4). Con el diferencial entre la razón de costos y la efectividad de implementación de VECTOS, y la alternativa de no implementar este programa, se obtuvo la razón incremental de costo-efectividad (RICE) representada por la ecuación 4:

$$RICE = \frac{(COSTOS_1) - (COSTOS_2)}{DESENLACES_1 - DESENLACES_2} \quad (4)$$

En esta razón, el subíndice 1 denota el uso de VECTOS y, el subíndice 2, el programa de control de vectores rutinario en Floridablanca.

### Horizonte temporal

El horizonte temporal del estudio fue de un año con los datos recolectados para el 2016, con el fin de reflejar los efectos de llevar a cabo estrategias de control vectorial basadas en la evidencia (8).

### Costos

Los costos se establecieron con la metodología de microcosteo de abajo hacia arriba, cuantificando los recursos empleados en cada una de las actividades ejecutadas mensualmente (9). Se clasificaron por estrategia y costos recurrentes y de capital, según la metodología de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (10).

La fuente de los datos sobre los costos de las intervenciones provino de la contabilidad de los municipios, la contratación, los registros trimestrales de ejecución de recursos y los registros diarios de ejecución de actividades usados en el CIDEIM.

En esta fase del proyecto, los costos de VECTOS fueron asumidos por el CIDEIM y los de esta evaluación se cargaron al programa de control de



vectores de Girón. El costo asignado a VECTOS corresponde al valor mensual cobrado a un municipio por los servicios de implementación, puesta en marcha y acompañamiento continuo en el uso del sistema, e incluye el recurso humano, los insumos y el recurso tecnológico. La totalidad del costo del programa no podía ser asignada a un solo municipio, ya que está concebido como un sistema que integra un número significativo de entes territoriales.

Parte del costo del programa de enfermedades transmitidas por vectores de Girón en este estudio, provino del estudio sobre los costos de los programas de control vectorial para entes territoriales en Colombia de Salinas-López, *et al.* (11).

Otros costos para los que no se contaba con una fuente confiable, se tomaron de la tabla de precios internacionales disponible en el portal WHO-CHOICE de la OMS (12) y se convirtieron a pesos colombianos (COP) del 2016 y a dólares americanos (USD) a una tasa de cambio de COP\$ 3.053,42 por USD\$ 1, la cual corresponde al promedio anual de la tasa representativa del mercado en el 2016.

### **Modelo**

Para las evaluaciones económicas de enfermedades infecciosas, se considera más apropiado el uso de modelos dinámicos, ya que ofrecen una aproximación más realista de su transmisión (13). En el caso del dengue, un modelado de este tipo requiere parámetros que involucran una interacción compleja entre humanos, vectores, ambiente y serotipos del virus (14), información que no estaba disponible para los casos estudiados en los programas rutinarios de control de Girón y de Floridablanca.

Por lo tanto, se consideró el uso de un árbol de decisiones como modelo de análisis y se asumió la transmisión del dengue como estática, por estar capturada únicamente en la tasa de incidencia por cien mil habitantes en cada una de las poblaciones analizadas, lo que refleja las condiciones de incertidumbre y las disyuntivas relevantes que implica la evaluación de un programa de este tipo (15).

Ante la ausencia de un umbral en términos de AVAD evitados para Colombia, se tomó como umbral de costo-efectividad el planteado por la comisión macroeconómica de la OMS, la cual estableció que una estrategia es muy costo-efectiva si tiene un valor de un PIB per cápita por AVAD evitado y es costo-efectiva si es inferior a tres veces el PIB per cápita de cada país (16).

Los parámetros empleados en la estimación del modelo se presentan en el cuadro 1, y provienen de los datos recolectados y de la literatura especializada. Para la estimación del modelo, se empleó el programa TreeAge Pro 2012™ (TreeAge Software Inc., Williamstown, MA, USA).

### **Resultados**

El análisis de costos de cada uno de los programas de control de las enfermedades transmitidas por vectores de los municipios estudiados, se presenta en el cuadro 2. En general, el programa de Floridablanca fue más costoso que el de Girón, especialmente por los costos recurrentes que representaron el 77 % del total; el rubro de personal representó cerca del 45 % del total. El uso y la implementación de VECTOS para el control rutinario de vectores en Girón, representaron cerca del 28 % del total de los costos, lo que equilibró la composición entre costos recurrentes y de capital

del programa. No obstante, sin contar el uso de VECTOS, el programa es intensivo en costos recurrentes, principalmente los de personal.

Los resultados del modelo determinístico sugieren que la alternativa de implementación de VECTOS en Girón fue más costo-efectiva que el programa rutinario de enfermedades transmitidas por vectores ejecutado en Floridablanca. En el cuadro 3, se resumen los resultados del análisis determinístico. Cabe destacar que el programa rutinario de enfermedades transmitidas por vectores de Floridablanca costó USD\$ 23.172 más que el de Girón, incluso agregando el costo mensual promedio de USD\$ 3.398 atribuible al VECTOS en este último municipio (cuadro 2).

**Cuadro 1.** Parámetros del modelo de decisión con los valores, los rangos en que fluctúan los parámetros, las distribuciones de probabilidad y el origen o la fuente de los datos. Los parámetros que acompañan la distribución gamma son  $\kappa$  y  $\lambda$  y los que acompañan la distribución beta son  $\alpha$  y  $\beta$ , los cuales se calcularon a partir de una aproximación de la media y la desviación estándar.

Parámetro	VECTOS y control rutinario (Girón)			Control rutinario (Floridablanca)		
	Valor de base (Rango)	Distribución	Fuente	Valor de base (Rango)	Distribución	Fuente
Tasa de incidencia anual de dengue (%)	0,28	Beta (459; 166,149)	SIVIGILA	0,54	Beta (1,391; 255,315)	SIVIGILA
Peso de discapacidad del dengue	0,81 (0,6-0,92)	Estimación fija	(4)	0,81 (0,6-0,92)	Estimación fija	(4)
Costo promedio mensual de personal (USD)	4.188	Gamma (6,46; 0,00154)	Recolección de datos	6.321	Gamma (6,45; 0,00102)	Recolección de datos <sup>1</sup>
Costos operacionales, promedio mensual (USD)	1.833	Gamma (6,45; 0,003)	Recolección de datos	3.603	Gamma (6,46; 0,00179)	Recolección de datos
Costos de insumos, promedio mensual (USD)	0	-	-	846	Gamma (6,45;0,00763)	Recolección de datos
Costos de capital, promedio mensual (\$USD)	1.424	Gamma (6,47; 0,00454)	Recolección de datos	3.383	Gamma (6,45; 0,00191)	Recolección de datos
Costo de VECTOS, promedio mensual (USD)	3.398	Gamma (6,46; 0,0019)	Recolección de datos	0	-	-
Costo de toldillos, promedio mensual (USD)	776	Gamma (6,47; 0,00834)	Recolección de datos	0	-	-
Costo de larvicida, promedio mensual (USD)	88	Gamma (6,32; 0,07184)	Recolección de datos	0	-	No se modeló
Costo de adulticida, promedio mensual (USD)	515	Gamma (6,44; 0,0125)	Recolección de datos	0	-	No se modeló
AVAD	17,62 (13,05-20,01)	Estimación fija	Cálculos propios	52,71 (39,05-59,87)	Estimación fija	Cálculos propios
Umbral de costos (USD\$) 5,861-17,583 Análisis de umbral						

<sup>1</sup> Contabilidad de los municipios, contratación y registros trimestrales de ejecución de recursos, y registro diario de ejecución de actividades del CIDEIM

**Cuadro 2.** Costos de los programas de enfermedades transmitidas por vectores en cada municipio en el 2016 (cifras en USD)

Rubros	VECTOS y control rutinario (Girón)	%	Control rutinario (Floridablanca)	%
Recurrentes	79.488		129.237	
Personal	50.254	34,3	75.855	44,7
Operacionales	22.001	15,0	43.230	25,5
Insumos	7.233	4,9	10.153	6,0
Capital	67.163		40.596	
VECTOS	40.770	27,8	-	0,0
Capital	26.393	18,0	40.596	23,9
Total	146.651	100	169.834	100

En cuanto a la efectividad, aunque el programa de Floridablanca destinó más recursos, se observó que la carga del dengue es de 35,09 AVAD más que en Girón, lo que evidencia la poca efectividad de su programa para reducir la morbilidad por dengue comparado con el de Girón. La razón incremental de costo-efectividad (RICE) indicó que, en el control rutinario y el uso de VECTOS en Girón, se emplearon USD\$ 660,4 menos por cada AVAD evitado que en el control rutinario de Floridablanca.

Los resultados individuales en el modelo planteado se resumen en el cuadro 4. Estos se obtienen de ingresar al modelo la información de un individuo, teniendo en cuenta sus probabilidades de contraer la enfermedad en cada una de las alternativas del árbol de decisión, e indicaron que seguía siendo más costo-efectivo el uso de VECTOS, pues en Girón se evitaron 0,24 AVAD a un costo inferior a los USD\$ 23.586, comparado con el control rutinario de Floridablanca. Cabe anotar que la magnitud del resultado final disminuyó porque, en estos municipios, la probabilidad de que un individuo se infecte es baja y esta probabilidad se derivó de la incidencia anual de dengue en el 2016.

El análisis univariado tomando como variable de efectividad los AVAD para el control rutinario más VECTOS en Girón, indicó que el umbral de indiferencia entre ambas alternativas se alcanzó cuando esta variable tomó el valor de 103,5 AVAD, en tanto que el análisis univariado para la variable del costo total ubicó el umbral de indiferencia de costo-efectividad en USD\$ 169.836 en el caso del control rutinario de Floridablanca. Los resultados de estos análisis de sensibilidad indican que el costo-efectividad fue mucho más sensible a los cambios en el costo del programa, puesto que el umbral en términos de AVAD equivalió a casi seis veces la medición inicial del programa rutinario más VECTOS en Girón, en tanto que el umbral de costos equivalió a casi el 16 % de la estimación inicial de costos.

Los resultados del análisis probabilístico también sugieren que el sistema VECTOS es la alternativa más costo-efectiva. En la figura 2 se presenta el gráfico de dispersión de las 10.000 iteraciones de la simulación de Montecarlo y se observa que la mayoría de los puntos de la alternativa VECTOS se ubican en la zona de mayor efectividad y menor costo, frente a la alternativa del control rutinario de Floridablanca. En promedio, la efectividad de la

**Cuadro 3.** Estimación del modelo determinístico en términos de la razón incremental de costo-efectividad (RICE)

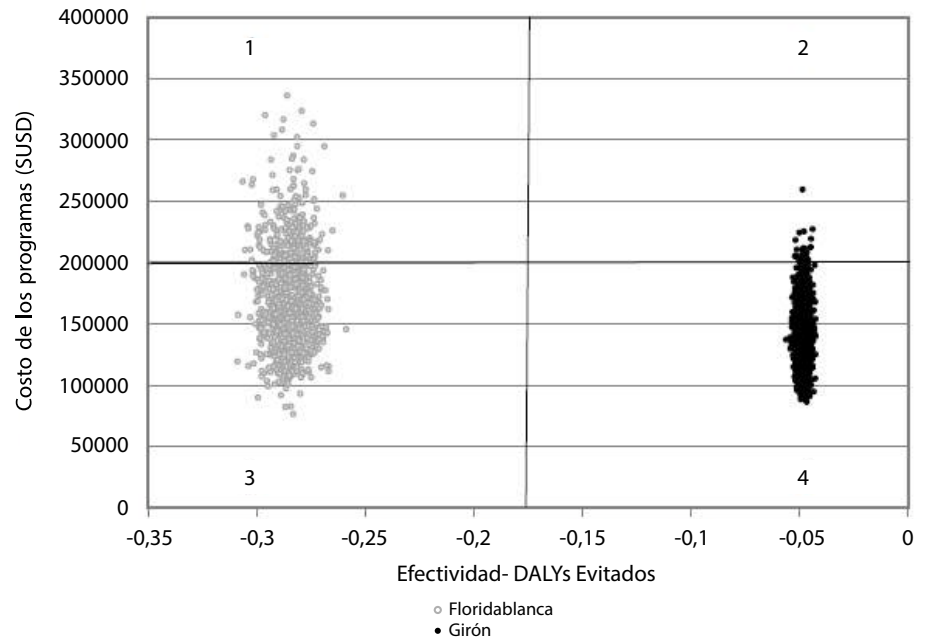
Alternativas	Costo (USD)	Costo incremental (USD)	AVAD	AVAD evitados	RICE	Resultado
VECTOS y control rutinario (Girón)	\$ 146.664		17,62			
Control rutinario (Floridablanca)	\$ 169.836	\$ 23.172	52,71	35,09	\$ 660,36	Dominada

AVAD: años de vida ajustados por discapacidad; RICE: razón incremental de costo-efectividad

**Cuadro 4.** Estimación del modelo determinístico en términos de la razón incremental de costo-efectividad (RICE) por individuo en el modelo de decisión

Alternativas	Costo (USD)	Costo incremental (USD)	AVAD	AVAD evitados	RICE	Resultado
VECTOS y control rutinario (Girón)	\$146.664		0,05			
Control rutinario (Floridablanca)	\$169.836	\$ 23.586	0,29	0,24	98.033	Dominada

AVAD: años de vida ajustados por discapacidad; RICE: razón incremental de costo-efectividad



**Figura 2.** Análisis de sensibilidad, diagrama de dispersión de 10.000 iteraciones del modelo de costo-efectividad. Cuadrante 1: posible situación menos deseable, más costosa y menos efectiva. Cuadrantes 2 y 3: compensación entre ahorro en costos u obtener más efectividad. Cuadrante 4: posible situación más deseable, menos costosa y más efectiva

alternativa VECTOS fue de 0,05 AVAD y su costo promedio fue de USD\$ 146.484, en tanto que la efectividad promedio de la alternativa del control rutinario de Floridablanca fue de 0,28 AVAD y el costo promedio fue de USD\$ 170.070. La curva de aceptabilidad expresa el porcentaje de iteraciones que resultaron costo-efectivas en los varios niveles de disponibilidad para pagar de las alternativas. Cerca del 70 % de las 10.000 iteraciones de la alternativa VECTOS fue costo-efectivo en un rango de disponibilidad para pagar de 1 a 3 PIB per cápita en Colombia en el 2016.

## Discusión

Los resultados indican que el programa VECTOS implementado en el control rutinario del municipio de Girón fue más costo-efectivo que el programa rutinario de control de vectores en Floridablanca durante el periodo analizado. Con el análisis de costo-efectividad se evaluó el valor económico de un sistema de planeación de programas de enfermedades transmitidas por vectores a nivel de entes territoriales. El modelo basado en la metodología del árbol de decisión permitió determinar que el programa VECTOS implementado en Girón, aparentemente, resultó en una menor carga de dengue en términos de AVAD y a un costo inferior que el programa rutinario de enfermedades transmitidas por vectores en Floridablanca, lo que indicaría que los sistemas basados en la evidencia son más costo-efectivos a la hora de tomar decisiones para el control vectorial en la prevención del dengue, como ya se ha señalado en la literatura científica (8).

En cuanto a los costos de los programas evaluados de enfermedades transmitidas por vectores, los resultados coinciden con lo hallado en la literatura especializada en el sentido de que las intervenciones en estas enfermedades implican una cantidad importante de personal remunerado y no remunerado, principalmente, si los programas están enfocados en estrategias que involucran a la comunidad (17-19).

Los diversos estudios de costo-efectividad se han enfocado principalmente en el análisis de intervenciones específicas sobre grupos poblacionales focalizados (20-24). En este sentido, una limitación del presente estudio fue el no haber analizado las estrategias específicas implementadas en cada uno de los municipios, lo que impidió determinar el costo-efectividad a este nivel en población focalizada. La hipótesis que se plantea es que las estrategias implementadas en Girón fueron planeadas y priorizadas de acuerdo con los factores de riesgo entomológicos, epidemiológicos y sociales, suministrados y estratificados por VECTOS en tiempo real y de manera integrada, lo que permitió hacer intervenciones focalizadas por barrio. Esto lleva a concluir que una parte significativa de la efectividad de las estrategias aplicadas se explicaría por el uso de dicho programa.

Los análisis de sensibilidad demostraron que, en situaciones de incertidumbre, la alternativa VECTOS es costo-efectiva frente a los principales parámetros, como la disponibilidad para pagar, el costo de cada uno de los programas y el peso de la discapacidad en el cálculo de los AVAD. El análisis evidenció que la decisión es más sensible a los cambios en el costo de cada programa que a la magnitud de la carga de enfermedad en cada municipio, lo que coincide con la realidad que enfrentan los municipios colombianos que tienen múltiples necesidades de salud y recursos limitados; por lo tanto, es prioritario el uso de análisis como el presentado aquí para optimizar el uso de dichos recursos.

En cuanto a los factores no controlables, el estudio adolece de varias limitaciones. Primero, los múltiples factores implicados en la transmisión de la enfermedad no son considerados por los programas locales de salud pública, que solo se encargan de controlar la población de adultos del vector y sus potenciales criaderos (25). Segundo, puede haber subestimación de los casos reportados en ambos municipios. El subregistro comienza con la notificación de los casos y depende de si los casos son reportados en los centros ambulatorios o si son de origen hospitalario, si son confirmados por el laboratorio o son casos sospechosos por síntomas, así como del hecho de si las personas acuden a los puestos de salud en cuanto presentan los síntomas (26,27). Por lo tanto, la estimación de la carga de la enfermedad puede haberse visto afectada en ambos municipios por dicho subregistro, ya que se calculó con los indicadores de morbilidad reportados al Sivigila (26).

Si bien en el municipio intervenido con VECTOS la carga de enfermedad fue menor, cabe resaltar que aislar el efecto del programa sobre la morbilidad es complejo, más aún si en periodos anteriores la magnitud de la incidencia del dengue era dispar entre los municipios analizados. Por último, no fue posible elaborar un modelo dinámico que diera una aproximación más realista de la transmisión del dengue en los municipios, y se sabe que esta metodología es más apropiada para el análisis de enfermedades infecciosas (13).

En términos de los valores per cápita, los controles rutinarios de ambos municipios fueron comparables al considerar el costo de VECTOS. En el municipio de Girón, el costo per cápita fue de USD\$ 0,62, mientras que, en Floridablanca, fue de USD\$ 0,66; por lo tanto, el efecto de una escala mayor de costos por cuenta de una mayor población expuesta en el municipio en comparación no se consideró determinante. Aunque el enfoque de este estudio se centró en el costo de la ejecución de los programas de control vectorial, cabe resaltar que, en los de dengue, los costos corresponden a los del sistema de salud y a los indirectos debidos a la pérdida de productividad,

lo que indicaría que cada caso evitado tiene un impacto mayor en términos de carga para la sociedad (28).

Las implicaciones de los resultados de esta investigación en términos de política, indicarían la necesidad de adoptar el programa VECTOS o una herramienta similar en los entes territoriales, pues mejora la planeación de estrategias y recursos para el control de enfermedades transmitidas por *A. aegypti*.

El programa responde a las necesidades de los entes territoriales que presentan un déficit de personal capacitado para el manejo de los programas de enfermedades transmitidas por vectores (29). Los reportes que genera y su interfaz son fáciles de comprender y manejar para facilitar la planeación y optimizar la gestión de los escasos recursos de los programas de enfermedades transmitidas por vectores (30). Además, VECTOS permite integrar el componente de vigilancia epidemiológica y entomológica en un sistema de información en tiempo real para la toma de decisiones. La ventaja de este programa es que se ajusta a las políticas locales de enfermedades transmitidas por vectores y las mejora con base en un trabajo coordinado con los entes territoriales, y no en una intervención introducida por un tercero.

Una posible dificultad para el uso de VECTOS es que los municipios deben contar con una dependencia municipal de enfermedades transmitidas por vectores que se encargue de recolectar la información y garantizar su fiabilidad, y que cuente con los recursos suficientes para un plan integral de intervenciones. Dado este contexto, puede decirse que el máximo aprovechamiento del programa se logra en municipios con autonomía fiscal y categoría de población 1, 2 o 3. Para los municipios de categoría 4, 5 y 6, el programa debería ser administrado por el ente departamental debido a la necesidad de contar con los recursos económicos, humanos y tecnológicos necesarios.

Por último, los resultados de este estudio son relevantes en el sentido de que suministran evidencia sobre el costo-efectividad de una tecnología nueva en el control de las enfermedades transmitidas por *A. aegypti*. El marco metodológico empleado puede ser replicado para ampliar el horizonte del estudio y detectar efectos perdurables en el tiempo y en otras localidades, pues el modelo de análisis se alimenta con información disponible en los entes territoriales de Colombia.

### Agradecimientos

A la Secretaría de Salud de San Juan de Girón y su programa de control de enfermedades transmitidas por vectores, y a la Secretaría de Salud de Floridablanca, por el suministro de la información necesaria para este estudio. Al CIDEIM, por su orientación en el manejo de los datos epidemiológicos y la bibliografía sobre las arbovirosis urbanas. Por último, al equipo del Centro de Estudios en Protección Social y Economía de la Salud (PROESA), por el apoyo recibido.

### Referencias

1. Instituto Nacional de Salud. Boletín epidemiológico semanal No. 52 de 2016. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2016. Fecha de consulta: 28 de noviembre de 2017. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2016%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052%20-.pdf>
2. Castrillón JC, Castaño J, Urcuqui S. Dengue en Colombia, diez años de evolución. Rev Chil Infectol. 2015;32. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000300002>

3. Chaparro P, León W, Castañeda CA. Comportamiento de la mortalidad por dengue en Colombia entre 1985 y 2012. *Biomédica*. 2016;36(Supl.2):125-34. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i0.3009>
4. Castro-Rodríguez R, Carrasquilla G, Porras A, Galera-Gélvez K, Yescas JG, Rueda-Gallardo JA. The burden of dengue and the financial cost to Colombia, 2010-2012. *Am J Trop Med Hyg*. 2016;94:1065-72. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0280>
5. Guyatt G, Rennie D, Meade M, Drummond MD. *Users' guides to the medical literature: Essentials of evidence-based clinical practice*. Second edition. New York: American Medical Association, McGraw-Hill Education; 2002. <https://doi.org/10.1036/0071590382>
6. Departamento Nacional de Planeación. Fichas de caracterización territorial módulo territorial. Bogotá: Departamento Nacional de Planeación; 2017. Fecha de consulta: 30 de marzo de 2018. Disponible en: <https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Desarrollo%20Territorial/FIT/PDF/81000.pdf>
7. Departamento Nacional de Planeación. Fichas de caracterización territorial Floridablanca. Bogotá, 2017. Fecha de consulta: 30 de marzo de 2018. Disponible en: <https://www.dnp.gov.co/programas/desarrollo-territorial/Paginas/Fichas-de-Characterizacion-Regional.aspx>
8. Pepin KM, Marques-Toledo C, Scherer L, Morais MM, Ellis B, Eiras AE. Cost-effectiveness of novel system of mosquito surveillance and control, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2013;19:542-50. <https://doi.org/10.3201/eid1904.120117>
9. Hendriks ME, Kundu P, Boers AC, Bolarinwa OA, Te Pas MJ, Akande TM, *et al*. Step-by-step guideline for disease-specific costing studies in low- and middle-income countries: A mixed methodology. *Glob Health Action*. 2014;7:23573. <https://doi.org/10.3402/gha.v7.23573>
10. Johns B, Baltussen R, Hutubessy R. Cost effectiveness and resource programme costs in the economic evaluation of health interventions. *Cost Eff Resour Alloc*. 2003;1:1. <https://doi.org/10.1186/1478-7547-1-1>
11. Salinas-López MA, Soto-Rojas VE, Ocampo CB. Costos de un programa de control del vector *Aedes aegypti* en municipios de Colombia: el caso de Girón y Guadalajara de Buga, 2016. *Cad Saúde Pública*. 2018;34:e00044518. <https://doi.org/10.1590/0102-311x00044518>
12. World Health Organization. Table: Prices and useful lives of tradable capital goods. Fecha de consulta: 19 de noviembre de 2017. Disponible en: [http://www.who.int/choice/cost-effectiveness/inputs/capital\\_goods/en/](http://www.who.int/choice/cost-effectiveness/inputs/capital_goods/en/)
13. Lugnér AK, Mylius SD, Wallinga J. Dynamic versus static models in cost-effectiveness analyses of anti-viral drug therapy to mitigate an influenza pandemic. *Health Econ*. 2010;19:518-31. <https://doi.org/10.1002/hec.1485>
14. de Castro Medeiros LC, Castilho CA, Braga C, de Souza WV, Regis L, Monteiro AM. Modeling the dynamic transmission of dengue fever: Investigating disease persistence. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5:1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000942>
15. Ryder HF, McDonough C, Tosteson AN, Lurie JD. Decision analysis and cost-effectiveness analysis. *Semin Spine Surg*. 2009;21:216-22. <https://doi.org/10.1053/j.semss.2009.08.003>
16. Sachs JD. Macroeconomics and health: Investing in health for economic development: Report of the commission on macroeconomics and health. *Nat Med*. 2001;8:1-200. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nm0602-551b>
17. Baly A, Toledo ME, Lambert I, Benítez E, Rodríguez K, Rodríguez E, *et al*. Cost of intensive routine control and incremental cost of insecticide-treated curtain deployment in a setting with low *Aedes aegypti* infestation. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2016;49:418-24. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0368-2015>
18. Thalagala N, Tissera H, Palihawadana P, Amarasinghe A, Ambagahawita A, Wilder-Smith A, *et al*. Costs of dengue control activities and hospitalizations in the public health sector during an epidemic year in urban Sri Lanka. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10:1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004466>
19. Alfonso-Sierra E, Basso C, Beltrán-Ayala E, Mitchell-Foster K, Quintero J, Cortés S, *et al*. Innovative dengue vector control interventions in Latin America: What do they cost? *Pathog Glob Health*. 2016;110:14-24. <https://doi.org/10.1080/20477724.2016.1142057>
20. Suaya JA, Shepard DS, Chang MS, Caram M, Hoyer S, Socheat D, *et al*. Cost-effectiveness of annual targeted larviciding campaigns in Cambodia against the dengue vector *Aedes aegypti*. *Trop Med Int Health*. 2007;12:1026-36. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2007.01889.x>

21. Baly A, Toledo ME, Boelaert M, Reyes A, Vanlerberghe V, Ceballos E, *et al.* Cost effectiveness of *Aedes aegypti* control programmes: Participatory versus vertical. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007;101:578-86. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2007.01.002>
22. Hanson K, Kikumbih N, Armstrong Schellenberg J, Mponda H, Nathan R, Lake S, *et al.* Cost-effectiveness of social marketing of insecticide-treated nets for malaria control in the United Republic of Tanzania. *Bull World Health Organ.* 2003;81:269-76.
23. Mendoza-Cano O, Hernández-Suárez CM, Trujillo X, Díaz-López HO, Lugo-Radillo A, Espinoza-Gómez F, *et al.* Cost-effectiveness of the strategies to reduce the incidence of dengue in Colima, México. *Int J Environ Res Public Health.* 2017;14. <https://doi.org/10.3390/ijerph14080890>
24. Tozan Y, Ratanawong P, Louis VR, Kittayapong P, Wilder-Smith A. Use of insecticide-treated school uniforms for prevention of dengue in schoolchildren: A cost-effectiveness analysis. *PLoS One.* 2014;9:1-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108017>
25. World Health Organization. Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention, and control. Geneva: World Health Organization; 2009. p. 147. Fecha de consulta: 29 de diciembre de 2017. Disponible en: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44188/9789241547871\\_eng.pdf;jsessionid=C8E3B9C4C8AA3569A0353015DCD389FD?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44188/9789241547871_eng.pdf;jsessionid=C8E3B9C4C8AA3569A0353015DCD389FD?sequence=1)
26. Pacheco O, Martínez M, Alarcón A, Bonilla M, Caycedo A, Valbuena T, *et al.* Estimación del subregistro de casos de enfermedad por el virus de chikungunya en Girardot, Colombia, noviembre de 2014 a mayo de 2015. *Biomédica.* 2017;37:507-15. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i4.3370>
27. Constenla D, Armien B, Arreondo J, Carabali M, Carrasquilla G, Castro R, *et al.* Costing dengue fever cases and outbreaks: Recommendations from a costing Dengue Working Group in the Americas. *Value Health Reg Issues.* 2015;8:80-91. <https://doi.org/10.1016/j.vhri.2015.06.001>
28. Laserna A, Barahona-Correa J, Baquero L, Castañeda-Cardona C, Rosselli D. Economic impact of dengue fever in Latin America and the Caribbean: A systematic review. *Rev Panam Salud Pública.* 2018;42:e111. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2018.111>
29. Carrasquilla G. Descentralización, reforma sectorial y control de la malaria en Colombia. En: Yadón ZE, Gürtler RE, Tobar F, Medici AC, editores. *Descentralización y gestión del control de las enfermedades transmisibles en América Latina.* Washington D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2006.
30. Kroeger A, Ordóñez-González J, Aviña AI. Malaria control reinvented: Health sector reform and strategy development in Colombia. *Trop Med Int Health.* 2002;7:450-8. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2002.00876.x>



Artículo original

## Costo-efectividad de la prueba de secuenciación del gen *CFTR* para portadores asintomáticos en la población colombiana

Ernesto Andrade, Jorge Díaz

Instituto de Investigaciones Clínicas, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** La fibrosis quística es una enfermedad genética de carácter autosómico recesivo clasificada como enfermedad huérfana de alto costo.

**Objetivo.** Determinar la razón de costo-efectividad de la prueba diagnóstica de secuenciación del gen *CFTR* para los portadores asintomáticos familiares en primer, segundo y tercer grados de consanguinidad.

**Materiales y métodos.** Se hizo una búsqueda sistemática sobre la evaluación de las características operativas de la prueba diagnóstica y los modelos de árbol de decisiones en estudios de costo-efectividad. Se elaboró un modelo de árbol de decisiones tomando como unidad de análisis la prevención de futuras concepciones. Los costos de la enfermedad se obtuvieron del reporte de alto costo del Ministerio de Salud de Colombia. Los costos de la prueba se obtuvieron de laboratorios nacionales. Se hizo un análisis de sensibilidad, determinístico y probabilístico, con la perspectiva del tercer pagador y horizonte a un año.

**Resultados.** Se obtuvo una razón incremental de *costo-efectividad* (RICE) de USD\$ 5.051,10 por obtener 10,89 % más de probabilidades de evitar el nacimiento de un niño enfermo con fibrosis quística por pareja. Para los familiares de segundo y tercer grados, se encontró una RICE de USD\$ 19.380,94 y USD\$ 55.913,53, respectivamente, al aplicar el PIB per cápita. Esta tecnología fue costo-efectiva en 39 %, 61,18 % y 74,36 % para 1, 2 y 3 PIB per cápita en familiares de primer grado de consanguinidad.

**Conclusiones.** La prueba genética de detección de portadores del gen *CFTR* resultó costo-efectiva dependiendo del umbral de la disponibilidad de pagar, y de los supuestos y limitaciones establecidas en el modelo.

**Palabras clave:** fibrosis quística/genética; tamización de portadores genéticos; asesoramiento genético; pruebas genéticas; evaluación de costo-efectividad.

### Cost-effectiveness of the *CFTR* gene-sequencing test for asymptomatic carriers in the Colombian population

**Introduction:** Cystic fibrosis is an autosomal recessive genetic disease classified as a high-cost orphan disease.

**Objective:** To determine the cost-effectiveness ratio of the diagnostic test for the *CFTR* gene-sequencing in asymptomatic family carriers in the first, second, and third degree of consanguinity.

**Materials and methods:** We conducted a systematic search evaluating operative characteristics of the diagnostic test and decision-tree models in cost-effectiveness studies. A decision-tree model was elaborated taking prevention of future conceptions as a unit of analysis. We obtained the costs of the disease from the high-cost report of the *Ministerio de Salud y Protección Social*. The costs of the test were referenced by national laboratories. We carried out a deterministic and probabilistic sensitivity analysis with a third-payer perspective and a one-year horizon.

**Results:** An ICER of USD\$ 5051.10 was obtained as the incremental cost for obtaining 10.89% more probability of avoiding the birth of a child with cystic fibrosis per screened couple. For family members in second and third degrees, the ICER was USD\$ 19,380.94 and USD\$ 55,913.53, respectively, evidenced when applying the GDP per capita. This technology was cost-effective in 39%, 61.18%, and 74.36% for 1, 2, and 3 GDP per capita in first degree of consanguinity relatives.

**Conclusions:** The genetic test for the detection of *CFTR* gene carriers was cost-effective depending on the threshold of availability to pay and the assumptions and limitations established in the model.

**Keywords:** Cystic fibrosis/genetics; genetic carrier screening; genetic counseling; genetic testing; cost-effectiveness evaluation.

**Recibido:** 30/10/2018  
**Aceptado:** 25/08/2019  
**Publicado:** 27/08/2019

#### Citación:

Andrade E, Díaz J. Costo-efectividad de la prueba de secuenciación del gen *CFTR* para portadores asintomáticos en la población colombiana. *Biomédica*. 2020;40:283-95. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4816>

#### Correspondencia:

Ernesto Andrade, Instituto de Investigaciones Clínicas, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C. Colombia  
Teléfono: (57) (318) 705 5266  
eandradec@unal.edu.co

#### Contribución de los autores:

Los dos autores participaron en el diseño metodológico, el análisis de datos, el análisis logístico y económico, y la interpretación, desarrollo y escritura del manuscrito.

#### Financiación:

Universidad Nacional de Colombia, código Hermes 20532

#### Conflicto de intereses:

Ninguno

La fibrosis quística es una enfermedad genética de carácter autosómico recesivo clasificada como enfermedad huérfana de alto costo. Es considerada la enfermedad genética más prevalente del grupo de las autosómicas recesivas, con una elevada incidencia mundial en caucásicos, aproximadamente de uno de cada 2.500 nacidos vivos (1).

La incidencia mundial de la fibrosis quística varía; en Europa, se presenta en uno de cada 2.000 a 3.000 nacidos; en África, en uno de cada 7.056; en Norteamérica, en uno de cada 3.500; en Latinoamérica varía entre uno de cada 3.900 y uno de cada 8.500 nacidos; en Medio Oriente, en uno de cada 2.560 a 15.876, y en Asia, en uno de cada 40.000 a 100.000 nacidos. Esta gran variabilidad depende de la consanguinidad y del origen étnico y varía mucho a nivel regional según la heterogeneidad étnica, siendo más frecuente a nivel mundial la mutación DF508 (2). La frecuencia de portadores sanos heterocigotos en la población caucásica se ha estimado en una de cada 25 personas (1,3).

En Colombia, la incidencia estimada es de uno por cada 5.000 nacidos vivos (4). La variabilidad en el riesgo de probabilidad de ser portador de una mutación depende del origen étnico cuando no hay antecedentes familiares de la enfermedad. En familiares del caso índice de fibrosis quística, esta probabilidad de portador de una mutación aumenta según el grado de consanguinidad.

El riesgo de ser portador de una mutación del gen regulador de conductancia transmembrana de fibrosis quística se detecta mediante pruebas genéticas que analizan de manera parcial o total los componentes del gen. Los paneles de mutación detectan las mutaciones comunes de cada región, pero ello depende de la epidemiología genética del gen *CFTR*, ya que el análisis completo del gen es laborioso y costoso. El panel de 25 mutaciones recomendado por el *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) detecta el 83,7 % de las mutaciones del gen *CFTR*, pero dicho porcentaje difiere según las regiones (2).

En Colombia son pocos los estudios que contribuyen a establecer la epidemiología y la estadística de las mutaciones más frecuentes en pacientes afectados por la enfermedad y en portadores asintomáticos, ya que no es frecuente que se analice la totalidad del gen *CFTR* (1,3,4). No existe un panel de mutaciones específico para Colombia con características operativas idóneas que pueda reducir los costos de la prueba genética.

Es importante mencionar que ni en Colombia ni en Suramérica se han hecho estudios de costo-efectividad de la prueba de secuenciación que permitan la detección de portadores de mutaciones en la fibrosis quística para la prevención de futuras concepciones con riesgo de presentar la enfermedad y esta no se está incluida en los planes de aseguramiento del sistema de salud colombiano. La guía colombiana recomienda desarrollar paneles de mutación específicos para la población colombiana que logren detectar el 80 % de los afectados y reducir el costo de los estudios moleculares (5).

En los padres portadores, el riesgo de transmitir ambos alelos defectuosos a hijos que desarrollen la enfermedad es del 25 % y el de tener hijos portadores sanos es del 50 %. Las opciones reproductivas para las parejas portadoras incluyen el diagnóstico prenatal con posible terminación del embarazo, la donación del oocito o de esperma, la adopción, el no tener hijos o el diagnóstico genético antes de una implantación (6).

El costo de un paciente con fibrosis quística se estima entre USD\$ 10.000 y USD\$ 40.000 por año representados en costos médicos directos y USD\$ 9.000 en costos secundarios (7), en tanto que la prueba de secuenciación completa del gen *CFTR* tiene un costo estimado entre USD\$ 1.000 y USD\$ 2.000 en Colombia, por lo que constituye una posible medida costo-efectiva que debe ser evaluada e implementada en el sistema de salud colombiano.

Esta enfermedad disminuye la supervivencia a un promedio de 37 años de edad con un adecuado manejo multidisciplinario en centros especializados (5).

El objetivo de esta investigación fue determinar la razón de costo-efectividad de la prueba diagnóstica de secuenciación del gen *CFTR* para portadores asintomáticos en edad fértil familiares de primer, segundo y tercer grados de consanguinidad del caso índice con diagnóstico de fibrosis quística, con el fin de prevenir futuras concepciones por el riesgo de presentar fibrosis quística mediante la asesoría genética bajo la perspectiva del tercer pagador.

### **Materiales y métodos**

Se hizo un estudio de costo-efectividad utilizando un modelo de árbol de decisiones y un análisis de sensibilidad probabilístico. La evidencia se obtuvo a partir de una búsqueda sistemática en bases de datos especializadas en salud, en la literatura gris y con un panel de expertos en estudios de costo-efectividad y sensibilidad y especificidad de la prueba de secuenciación del *CFTR*.

La búsqueda se hizo en Medline, NHS Economic Evaluation Database, Human Genomic Epidemiology Network (HuGE Net), Embase, Cochrane Database of Systematic Reviews, LILACS, Health Technology Assessment, Genetests y Genetsickkids, sin restricción de idioma ni fecha de publicación incluyendo los términos “Cystic fibrosis, *CFTR*, Mucoviscidosis, Transmembrane conductance regulator gen, Sequence Analysis, Massively-Parallel Sequencing, genetic screening, carrier screening, carrier testing, Diagnostic Tests, Sensitivity, Specificity”.

Dos revisores independientes evaluaron la elegibilidad de los artículos. La evaluación de los estudios no fue cegada, ya que se conocía el nombre del autor, la institución y la fuente de publicación. Los desacuerdos fueron resueltos por un tercer revisor.

La evidencia se valoró con un instrumento de evaluación de la calidad de pruebas diagnósticas (Quadas2) y otro de evaluación de la calidad de estudios económicos en salud (QHES) (8,9). El diseño se hizo mediante un modelo de árbol de decisiones con el programa TreeAge Pro Healthcare 2015 tomando como unidad de análisis la prevención de futuras concepciones mediante asesoría genética por el riesgo de presentar fibrosis quística y la razón de costo-efectividad incremental. Se tuvo en cuenta la mejor ‘evidencia’ disponible para elaborar el modelo, medir, estimar y valorar los resultados, los costos directos de las pruebas diagnósticas y los costos de atención anual de un paciente con fibrosis quística, estos últimos obtenidos de los sistemas de información de la cuenta de alto costo del Ministerio de Salud y Protección Social.

Se utilizaron los costos directos reportados por las entidades promotoras de salud a la cuenta de alto costo del Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia en el 2012. Los costos se actualizaron al valor del momento aplicando el índice de precios al consumidor en salud de Colombia para el 2013, el 2014, el 2015 y el 2016. No se tuvieron en cuenta los costos

indirectos ni los costos por pérdida de productividad. Los costos de la prueba genética de secuenciación del gen *CFTR* con la técnica Sanger se obtuvieron de laboratorios genéticos nacionales y de referencias colombianas. Los valores de los costos se ajustaron a la tasa de cambio representativa del mercado (COP\$ 3.382) en agosto del 2019 (10).

Los supuestos aplicados al modelo fueron: a) todas las parejas en riesgo por antecedentes familiares en primer, segundo o tercer grados de consanguinidad aceptarían someterse a la prueba de secuenciación del gen *CFTR*; b) el 100 % de las parejas en riesgo por tener un resultado positivo en la prueba de secuenciación aceptarían las recomendaciones dadas en la asesoría genética; c) las parejas asintomáticas portadoras de mutaciones tendrían 25 % de probabilidades de tener hijos con la enfermedad y el 50 %, hijos portadores asintomáticos de la mutación; d) las parejas analizadas recordarían su estado de portador anotado en su historia clínica y no se repetirían nuevamente sus exámenes.

Al modelo se le hizo un análisis de sensibilidad determinístico y probabilístico desde la perspectiva del tercer pagador y con un horizonte temporal a un año. Para el análisis de sensibilidad probabilístico se desarrolló una simulación de Montecarlo con 10.000 iteraciones y se utilizaron distribuciones logarítmicas normales para costos y distribuciones beta para probabilidades. Esta investigación se ajustó a la “Guía metodológica para la actualización integral del plan obligatorio de salud del Sistema General de Seguridad Social en Salud” (11) y a la “Guía metodológica para la elaboración de guías de atención integral en el sistema general de seguridad social en salud colombiano” (12).

El estudio fue clasificado como una investigación con mínimo riesgo según la Resolución 8430 de 1993, artículo 11 del Ministerio de Salud (13).

## Resultados

En la revisión sistemática de estudios de costo-efectividad se encontraron 573 artículos y se excluyeron 560 al revisar los títulos y los resúmenes. Se seleccionaron 13 estudios (14-26) que cumplían con los criterios de inclusión al ser evaluaciones económicas completas. De los seleccionados, cuatro se habían hecho en Estados Unidos, dos en el Reino Unido, tres en los Países Bajos, tres en Australia y uno en México. Seis de los estudios tenían como intervención la tamización previa a la concepción además de la tamización prenatal (16,18,19,20,24,26), cinco exclusivamente la tamización prenatal (14,15,17,21,25) y dos, la tamización previa a la concepción (22,23). La perspectiva más usada fue la del tercer pagador (9 de los 13 estudios incluidos). La tasa de descuento aplicada estuvo entre el 3,5 y el 5 %.

La principal unidad de análisis fue la del costo por pareja portadora detectada, seguida del costo por nacimiento con fibrosis quística evitado. Diez estudios aplicaron el modelo de análisis de decisiones. Hubo heterogeneidad en los supuestos aplicados y la mayoría utilizó el método univariado para el análisis de sensibilidad. Todos los estudios aplicaron la sensibilidad y la especificidad de la prueba de portador y de la prenatal. En todos los estudios seleccionados la intervención fue comparada con no hacer la prueba, teniendo en cuenta que la mayoría de países no habían establecido aún un programa de tamización genética para portadores de fibrosis quística. La prevalencia de portador más empleada fue de uno en 25 pacientes seguida por uno en 30, que son las de mayor aplicación en pacientes caucásicos. Se evidenció que la expectativa de vida más usada para un paciente con fibrosis quística fue de 30 años.

Se encontró una importante heterogeneidad en la metodología aplicada en los estudios, lo que desembocó en que los resultados no fueran comparables entre ellos y se concluyera que existen diferentes enfoques para el uso de esta prueba genética: características operativas de la prueba diagnóstica, moneda, y supuestos y probabilidades ajustados a las necesidades y características de cada país. No se encontró ningún estudio económico en Suramérica (27).

Se registró el costo total del plan obligatorio de salud (POS) y del no POS para el 2012 en pesos colombianos, el cual se actualizó al valor del 2016 aplicando el índice de precios al consumidor (IPC) en salud de Colombia: 0,0444 en el 2013; 0,0346 en el 2014; 0,053 en el 2015, y 0,0814 en el 2016. En dicho registro se encontró el costo individual y el promedio por rango de edades con una mayor frecuencia de pacientes entre los 1 y los 9 años. El costo promedio por paciente, independientemente de la edad y la gravedad de la enfermedad, fue de COP\$ 35'986.538 (USD\$ 10.640,60), con una desviación estándar de COP\$ 21'530.047 (USD\$ 6.366,06). Con esta información se determinó un costo mínimo de COP\$ 14'456.491 (USD\$ 4.274,53) y un costo máximo de COP\$ 57'516.585 (USD\$ 17.006,67). En los cuadros 1 y 2 se presentan los parámetros de costos y las probabilidades aplicadas al modelo.

**Cuadro 1.** Parámetros de costos aplicados al modelo

Variable	Costos			Fuentes	Parámetros
	Base	Mínimo	Máximo		
Costo de la prueba de secuenciación del gen <i>CFTR</i>	COP\$ 3'474.000 USD\$ 1.027,20	COP\$ 3'432.904 USD\$ 1.015,05	COP\$ 4'234.000 USD\$ 1.251,92	1. Laboratorio Genética Molecular de Colombia, 2016 2. GPC FQ Colombia, 2014- 2016 3. Laboratorio Genetix, 2016	Distribución log normal $\mu=15,0608$ $\sigma=,0559$
Costo de la atención anual por paciente con fibrosis quística	COP\$ 35'986.538 USD\$ 10.640,60	COP\$ 14'456.491 USD\$ 4.274,53	COP\$ 57'516.585 USD\$ 17.006,67	1. SISPRO/2012, 2016	Distribución log normal $\mu=17,3986$ $\sigma=0,3452$
Costo de la asesoría genética a la pareja en riesgo	COP\$ 28.500 USD\$ 8,42	COP\$ 25.650 USD\$ 7,58	COP\$ 31.350 USD\$ 9,26	SOAT 2016	Distribución log normal $\mu=10,2576$ $\sigma=0,0501$

CFTR: regulador de la conductancia transmembranal de fibrosis quística; FQ: fibrosis quística, SISPRO: Sistema integral de información de la protección social; SOAT: seguro obligatorio de accidentes de tránsito; GPC: Guía de práctica clínica

**Cuadro 2.** Probabilidades consideradas en el modelo

Variable	Base	Mínimo	Máximo	Fuentes	Parámetros
Probabilidad de ser portador de mutación para fibrosis quística con antecedente de familiar en primer grado (hermanos de pacientes con fibrosis quística)	0,66	0,25	1	Roberts, 2003 (28) Expertos	Distribución beta $\alpha=4,05$ ; $\beta=2,08$
Probabilidad de ser portador de mutación para fibrosis quística con antecedente de familiar en segundo grado (tíos y abuelos de pacientes con fibrosis quística)	0,5	NA	NA	Roberts, 2003	NA
Probabilidad de ser portador de mutación para fibrosis quística con antecedente de familiar en tercer grado (primos de pacientes con fibrosis quística)	0,25	NA	NA	Roberts, 2003	NA
Probabilidad de ser portador de mutación para fibrosis quística sin antecedente familiar en Colombia	0,015 (1/65)	NA	NA	Keyeux, 1997 (3)	NA
Probabilidad de ser portador de mutación para fibrosis quística sin antecedente familiar en caucásicos	0,04 (1/25)	NA	NA	ACOG, 2011 (29)	NA
Sensibilidad de la prueba de secuenciación del gen <i>CFTR</i>	0,96	0,92	0,97	Lyon, 2015 (30)	Distribución beta $\alpha=226,59$ ; $\beta=9,44$
Especificidad de la prueba de secuenciación del gen <i>CFTR</i>	1	0,99	1	Lyon, 2015	Distribución beta $\alpha=152,48$ ; $\beta=0,1526$

CFTR: regulador de la conductancia transmembranal de fibrosis quística

En la búsqueda sistemática de estudios sobre pruebas diagnósticas se encontró el reporte de las características operativas de la prueba de portador para fibrosis quística o de la prueba genética para pacientes con diagnóstico clínico de la enfermedad en nueve artículos, de los cuales cuatro se incluyeron en el análisis y revisión completa con el QUADAS2.

En el presente estudio se consideró que las pruebas MGL 2 y 5 evaluaban competencias diagnósticas específicas para detectar mutaciones de fibrosis quística en muestras de laboratorio purificadas con mutaciones conocidas revisadas por el comité del *College of American Pathologists*. No se establecía la selección de los pacientes, si eran portadores o no, o si habían tenido fibrosis quística. Como parte de la prueba de competencia enviada por dicho comité, se solicitaba que cada laboratorio interpretara clínicamente la mutación o las mutaciones encontradas, lo que podría definirse como un enmascaramiento simple de los laboratorios que disminuyó el riesgo de sesgos de selección y de diagnóstico (31).

Se encontró que el estudio de Lyon (30) fue el de menor riesgo de sesgo y de una alta calidad para incluirlo en el análisis, como se evidencia en el cuadro 3, ya que se reportan de manera diferencial las características analíticas de laboratorios internacionales no estadounidenses y las técnicas de diagnóstico aplicadas a las muestras, entre ellas la de secuenciación de Sanger, aunque solo se incluyeron en las muestras enviadas las 23 mutaciones más frecuentes recomendadas por el panel de detección del *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) y del ACMG.

Al hacer el análisis de costo-efectividad con el modelo de árbol de decisiones (figura 1), se obtuvo una RICE de COP\$ 17'082.833,90 (USD\$ 5.051,10), lo que evidencia que este es el costo incremental por obtener 10,89 % más de probabilidades de evitar el nacimiento de un niño enfermo con fibrosis quística por pareja tamizada, como se aprecia en tabla 4. La estrategia de no hacer la prueba genética tuvo una efectividad basal de 89,11 % para tener niños sanos por cada gestación con base en las características de herencia autosómica recesiva propias de la enfermedad. Con la prueba genética acompañada de asesoría, se logró obtener el 100 % de efectividad para evitar el nacimiento de niños con fibrosis quística.

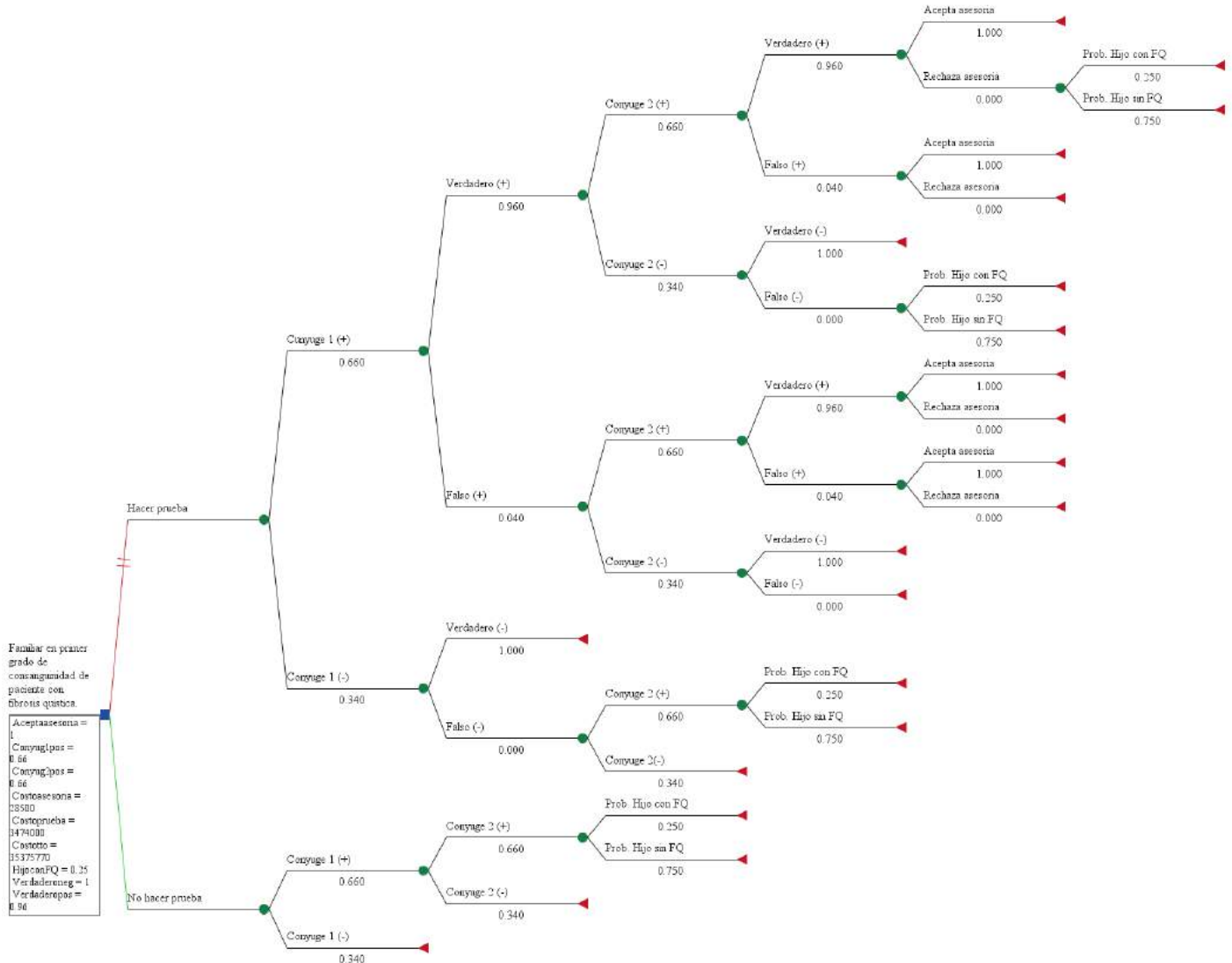
De este análisis se pudo inferir que de cada 100 gestaciones de parejas en riesgo que no se hicieran la prueba genética, 89 nacimientos serían de niños sanos y 11 estarían afectados con fibrosis quística. Con la estrategia propuesta, en cada 100 parejas en riesgo sometidas a la prueba y con asesoría genética, se evitarían 11 concepciones de niños con fibrosis

**Cuadro 3.** Resultados del *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies* (QUADAS 2)

Estudio	Riesgo de sesgo			Aplicabilidad			
	Selección de pacientes	Prueba índice	Prueba de referencia	Flujo y cronograma	Selección de pacientes	Prueba índice	Prueba de referencia
Palomaki, 2003 (33)	?	?	😊	😊	?	?	😊
Strom, 2003 (34)	😊	😊	?	?	😊	😊	?
Pratt, 2009 (35)	?	😊	?	?	?	😊	?
Lyon, 2015	?	😊	😊	😊	😊	😊	😊

😊 Bajo riesgo ☹ Alto riesgo ? Riesgo poco claro

quística. En el plano del costo-efectividad se encontró que las estrategias se situaban en el cuadrante I, lo que evidenció que hacer la prueba genética era más efectivo, pero también más costoso que no hacerla. Para los familiares de segundo y tercer grados de consanguinidad se encontró una RICE de COP\$ 65'546.360,2 (USD\$ 19.380,94) y COP\$ 189'099.579,5 (USD\$ 55.913,53), respectivamente.



Conyuge (+): portador de mutación; conyuge (-): no portador de mutación; verdadero (+)/falso (+)/(-): correspondiente a las características operativas de la prueba según sensibilidad y especificidad; Pro. hijo con o sin fibrosis quística: probabilidad de tener o no un hijo con fibrosis quística; rechaza o acepta asesoría: asesoría genética sobre el resultado de la prueba con sus recomendaciones

Figura 1. Árbol de decisiones aplicado al modelo

Cuadro 4. Resultado del análisis de costo-efectividad

Estrategia	Costo	Costo incremental	Efectividad	Efectividad incremental	ICER
No hacer la prueba	COP\$ 3'918.933,99 USD\$ 1.158,76	NA	0,8911	NA	NA
Hacer la prueba	COP\$ 5'779.254,60 USD\$ 1.708,82	COP\$ 1'860.320,61 USD\$ 550,06	1	0,1089	COP\$ 17'082.833,90 USD\$ 5.051,10

En el análisis de sensibilidad univariado representado en el diagrama de tornado (figura 2), se encontró que las variables con mayores probabilidades de riesgo de incertidumbre fueron: hijo con fibrosis quística, ambos cónyuges positivos (hombre y mujer) y costo del tratamiento, lo cual indica que el cambio de cada una de estas variables de manera independiente entre los rangos establecidos influyó directamente en el resultado, siendo menor o mayor a la RICE obtenida con los datos basales del modelo. En la variable de un hijo con fibrosis quística, el riesgo de tener hijos con fibrosis quística cuando ambos padres son portadores de una mutación fue de hasta el 25 %, por ser esta una enfermedad autosómica recesiva. En cuanto a las variables de costo de tratamiento y uno de los cónyuges positivo, se encontró que la RICE llega a ser negativa, lo que representa un ahorro con respecto a los límites superiores de dichas variables. El resto de las variables no presentó una proporción de incertidumbre considerable.

Se hizo un análisis bivariado de la variable “probabilidad de portador de mutación” en ambos cónyuges y se encontró una RICE mucho más alta comparada con los parámetros de base: aproximadamente, entre COP\$ 65.000.000 (USD\$ 19.219,39) y COP\$ 189'000.000 (USD\$ 55.884,09) por evitar una futura concepción de un niño con riesgo de presentar fibrosis quística.

Teniendo en cuenta que el presente estudio no fue de costo-utilidad y respondió a la perspectiva del tercer pagador, se usó el producto interno bruto (PIB) per cápita como valor de disponibilidad a pagar sin aplicar los años de vida con discapacidad (AVAD) como unidades de análisis. Según la comisión de macroeconomía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), el PIB per cápita se puede aplicar para medir el costo-efectividad de una tecnología en salud para enfermedades comunes (32). Se aplicó esta consideración al caso de la fibrosis quística, ya que no existe un umbral nacional de disponibilidad a pagar para la prevención de esta enfermedad, clasificada como huérfana de alto costo. Si la RICE es menor o igual a un PIB per cápita, se considera muy costo-efectiva, entre uno y tres PIB per cápita se considera costo-efectiva y más de tres PIB per cápita como no costo-efectiva. Según estimaciones del DANE, el PIB per cápita provisional para el 2015 fue de COP\$ 16'613.951 (USD\$ 4.912,46) (10).

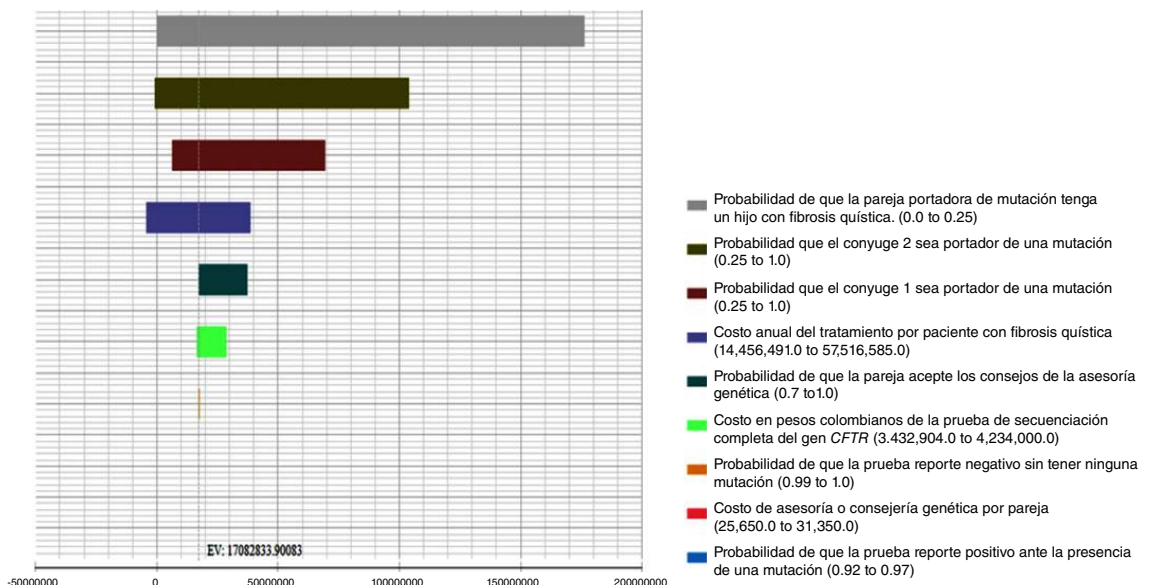
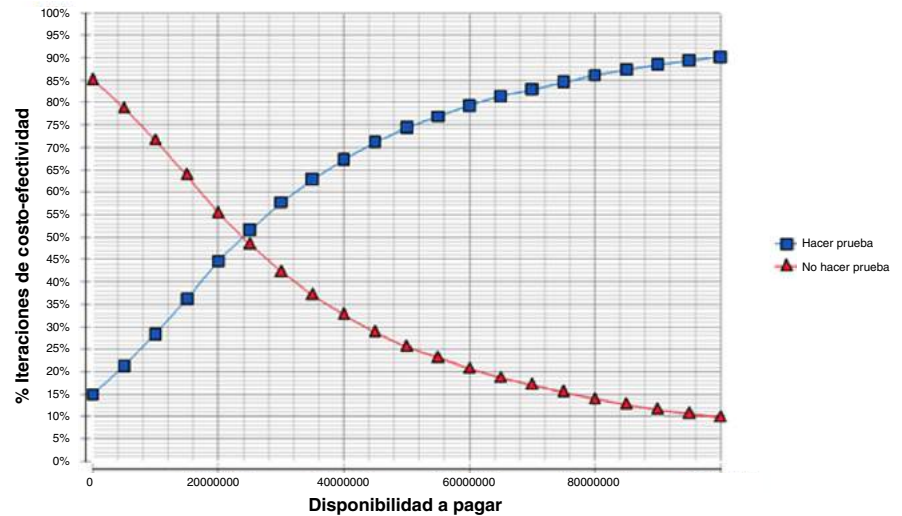


Figura 2. Diagrama de tornado (ICER)





**Figura 3.** Curva de aceptabilidad de costo-efectividad

Con la simulación de Monte Carlo se encontró que esta tecnología diagnóstica fue costo-efectiva por tener una RICE entre 1 y 3 PIB per cápita considerando la incertidumbre bajo un análisis de sensibilidad probabilístico. La probabilidad de que la estrategia de hacer la prueba diagnóstica fuera costo-efectiva fue de 39 %, 61,18 % y 74,36 % con uno, dos y tres PIB per cápita, respectivamente.

La curva de aceptabilidad de costo-efectividad (figura 3) evidenció que con una disponibilidad a pagar de COP\$ 25'000.000 (USD\$ 7.392,07) la probabilidad de que la estrategia de hacer la prueba genética fuera costo-efectiva era del 50 %. El resultado de la RICE de COP\$ 17'082.833,90 (USD\$ 5.051,10) evidenció que la probabilidad de que la estrategia de hacer la prueba genética fuera costo-efectiva era del 36 %, aproximadamente. Además, se evidenció que la probabilidad de costo-efectividad de hacer la prueba genética con una RICE del 60 % estaba en un rango de disponibilidad a pagar de COP\$ 4'000.000 (USD\$ 1.182,73) y COP\$ 60'000.000 (USD\$ 17.740,98).

## Discusión

Los datos demuestran que puede existir variabilidad entre la aceptación o no de la prueba genética para los portadores de fibrosis quística y de las recomendaciones dadas durante la asesoría genética que impliquen opciones como la de evitar tener hijos o adoptar, lo que no representaría costos adicionales. Otras opciones reproductivas, como el diagnóstico prenatal, la donación de oocitos o de espermatozoides y el diagnóstico genético antes de la implantación sí tienen un costo adicional que no se contempló en el modelo, pues la pareja tiene autonomía para decidir sobre estas alternativas y son quienes optan entre abortar o no en caso de que el neonato esté afectado con la enfermedad.

Es importante tener en cuenta que este estudio se planteó en circunstancias ideales en las que el 100 % de las parejas aceptaría usar la prueba de portador para fibrosis quística y las recomendaciones de la asesoría genética. Dado este supuesto, se evaluó el resultado dependiendo de la probabilidad de aceptación de las recomendaciones dadas durante la asesoría genética y demostrando que con el 10 % de aceptación de la asesoría genética por cada 100 parejas en riesgo de ser portadoras de la

mutación se evitaría, por lo menos, un caso de fibrosis quística. Asimismo, se determinó el costo total de los 11 casos de fibrosis quística por cada 100 parejas en riesgo en caso de no hacerse la prueba, con un total de COP\$ 13.315'019.060 (USD\$ 3'937.025,15), según la esperanza de vida promedio de 37 años en Colombia y asumiendo el costo anual promedio como constante.

Ioannou, *et al.* (36), hicieron en el 2014 una revisión sistemática de estudios que evaluaban las consecuencias psicológicas y de preferencia en cuanto al uso de la prueba en familiares con antecedentes de fibrosis quística. Se seleccionaron 85 estudios en los que se había registrado el 40 % de aplicación de la prueba prenatal y el 30,6 % antes de la concepción. El 89 % de las mujeres no gestantes y el 98 % de las gestantes prefería que la prueba se ofreciera antes de la concepción. El rango de su uso en el seguimiento antes de la concepción fue entre 2 y 96 %. En 50 a 94 % de los estudios se encontró que la población prefería recibir asesoría antes de la prueba en la consulta general.

En su estudio del 2015, Ioannou, *et al.* (37), analizaron ocho parejas de un programa de tamización para portadores del gen de la fibrosis quística, seis de las cuales decidieron hacerse el diagnóstico prenatal y se encontraron dos fetos afectados por la enfermedad. Tres parejas decidieron no tener más hijos.

Por su parte, en un estudio retrospectivo (25 años) del 2016 en Francia, Dugueperoux, *et al.* (38), analizaron la probabilidad del uso de la prueba de portador de mutaciones para fibrosis quística y encontraron que la habían usado el 40,3 % (185 personas) de las 459 personas mayores de 18 años familiares de 40 pacientes con fibrosis quística. Esta estrategia permitió la detección de cinco parejas portadoras con riesgo de tener hijos con la enfermedad.

Como todo modelo, el aquí empleado también tuvo limitaciones:

- a) no se valoró desde la perspectiva social y no se tuvieron en cuenta los costos indirectos;
- b) al ser un modelo con un horizonte temporal de un año, no se pudieron evaluar resultados posteriores, como el tener más de una gestación, o considerar la esperanza de vida asociada con los costos de atención en salud, con lo cual mejoraría el costo-efectividad;
- c) las probabilidades aplicadas en el modelo se obtuvieron de estudios internacionales que evaluaban las características operativas de la prueba genética en poblaciones principalmente estadounidenses y europeas, lo que limita su valoración en la población colombiana;
- d) no se ha establecido un umbral de disponibilidad de pagar para la prevención de casos de fibrosis quística en Colombia, lo cual deja su determinación para la prevención de un caso de fibrosis quística a consideración del sistema de salud y del tomador de decisiones, lo que podría variar la clasificación del costo-efectividad de tecnologías en salud para enfermedades de alto costo; asimismo, el umbral de disponibilidad a pagar para la prevención de casos de fibrosis quística asociado con la esperanza de vida de la enfermedad podría mejorar el resultado de costo-efectividad del modelo;
- e) se tuvo en cuenta que el costo de la prueba fue el de la secuenciación completa del gen *CFTR*, ya que no se encontraron estudios epidemiológicos de la distribución genética completa de las mutaciones del gen de la fibrosis quística en el país, lo que habría permitido aplicar un panel de mutaciones con alta sensibilidad y especificidad

para la población colombiana; si se contara con este tipo de panel de mutaciones específico para Colombia, los costos de la prueba genética bajarían y ello mejoraría su costo-efectividad, y

- f) el PIB per cápita como umbral de disponibilidad de pagar pudo sobrevalorar o subvalorar el costo-efectividad del modelo.

El presente estudio puede aplicarse a la población colombiana, ya que el modelo de árbol de decisiones fue adaptado a la atención clínica del país, sin embargo, debe mejorarse la aceptación de la consulta previa a la concepción para garantizar que el 100 % de los familiares accedan a la prueba genética. Para ello debe hacerse la búsqueda activa en las familias de los pacientes diagnosticados con fibrosis quística. También debe tenerse en cuenta que no se incluyó la perspectiva de la sociedad, lo que influye en el resultado de costo-efectividad.

En conclusión, se evidenció que la prueba genética de secuenciación para portadores de fibrosis quística es costo-efectiva según la disponibilidad de pagar de 1 a 3 PIB per cápita por parte del tercer pagador. Para los familiares en segundo y tercer grado de consanguinidad el ICER es mayor y el costo-efectividad depende de la disponibilidad de pagar. No se encontraron estudios sobre el costo-efectividad de esta prueba genética en portadores de fibrosis quística en Colombia ni en Suramérica y tampoco se ha establecido un umbral de disponibilidad de pagar para la prevención de casos en enfermedades de alto costo, como la fibrosis quística.

Deben hacerse más estudios de distribución epidemiológica de las mutaciones más frecuentes de fibrosis quística en pacientes afectados y familiares portadores para establecer un panel de mutaciones con alta sensibilidad y especificidad para la población colombiana. Dado el costo de la prueba genética y el amplio número de mutaciones que aparecen en el gen que regula la fibrosis quística, es importante crear un panel de mutaciones específico para reducir los costos de implementación de la prueba y así elevar el costo-efectividad según lo evidenciado en los resultados y en el costo anual de un paciente con fibrosis quística, sin considerar las complicaciones y los años vividos con discapacidad que esta enfermedad genera. Resultaría muy útil implementar esta prueba genética en la población colombiana con un costo bajo para garantizar una mejor distribución de los recursos en salud según la carga de la enfermedad a nivel nacional.

## Referencias

1. Jay ML, Mateus H, Fonseca D, Restrepo MC, Keyeux G. PCR- heteroduplex por agrupamiento: implementación de un método de identificación de portadores de la mutación más común causal de fibrosis quística en Colombia. *Colomb Med*. 2006;37:176-82.
2. World Health Organization. The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis. 1983. Fecha de consulta: 10 de octubre de 2016. Disponible en [https://www.who.int/genomics/publications/en/HGN\\_WB\\_04.02\\_report.pdf](https://www.who.int/genomics/publications/en/HGN_WB_04.02_report.pdf)
3. Keyeux G, Sánchez D, Garavito P, Stand I, Rodas C, Bienvenu T, *et al*. Estudios moleculares en pacientes colombianos con fibrosis quística. *Acta Médica Colombiana*. 1997;22:167-73.
4. Silva MS. Determinación de la frecuencia de portadores de la mutación DF508 en la población colombiana (tesis). Bogotá: Universidad del Rosario; 2007.
5. Ministerio de Salud y Protección Social. Colciencias. Guía de práctica clínica para la prevención, diagnóstico, tratamiento y rehabilitación de fibrosis quística. Bogotá: Ministerio de Salud y Protección Social; 2014.
6. Goetzinger KR, Cahill AG. An update on cystic fibrosis screening. *Clin Lab Med*. 2010;30:533-43. <https://doi.org/10.1016/j.cl.2010.04.005>

7. National Institutes of Health. Consensus Development Conference Statement on Genetic Testing for Cystic Fibrosis. Genetic testing for cystic fibrosis. *Arch Intern Med*. 1999;159:1529-39. <https://doi.org/10.1001/archinte.159.14.1529>
8. Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, *et al*. QUADAS-2: A revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med*. 2011;155:529-36. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009>
9. Chiou CF, Hay JW, Wallace JF, Bloom BS, Neumann PJ, Sullivan SD, *et al*. Development and validation of a grading system for the quality of cost-effectiveness studies. *Med Care*. 2003;41:32-44. <https://doi.org/10.1097/01.MLR.0000039824.73620.E5>
10. Banco de la República de Colombia. Dirección de Síntesis y Cuentas Nacionales, estudios económicos - Cuentas financieras. Bogotá, Colombia. Metodología año base 2005. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://www.banrep.gov.co/es/pib>
11. Comisión de Regulación en Salud. Metodología para la actualización integral del plan obligatorio de salud del sistema general de seguridad social en salud. Bogotá, Colombia. 2011. Fecha de consulta: 4 de febrero de 2015. Disponible en: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Acuerdo%20029%20de%202011%20%E2%80%93%20Documento%20Tecnico%20-%20Actualizaci%C3%B3n%20Integral%20del%20POS%20del%20SGSSS%202011.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Acuerdo%20029%20de%202011%20%E2%80%93%20Documento%20Tecnico%20-%20Actualizaci%C3%B3n%20Integral%20del%20POS%20del%20SGSSS%202011.pdf)
12. Ministerio de la Protección Social, Colciencias, Centro de Estudios e Investigación en Salud de la Fundación Santa Fe de Bogotá, Escuela de Salud Pública de la Universidad de Harvard. Guía metodológica para el desarrollo de guías de atención integral en el Sistema General de Seguridad Social en Salud colombiano. Bogotá, Colombia 2010. Fecha de consulta: 15 de mayo de 2015. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/Documents/Gu%C3%ADa%20Metodol%C3%B3gica%20para%20la%20elaboraci%C3%B3n%20de%20gu%C3%ADas.pdf>
13. Ministerio de Salud. Resolución 8430 de 1993. Bogotá, Colombia. Fecha de consulta: 15 de diciembre de 2014. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/RESOLUCION-8430-DE-1993.PDF>
14. Lieu TA, Watson SE, Washington AE. The cost-effectiveness of prenatal carrier screening for cystic fibrosis. *Obstet Gynecol*. 1994;84:903-12.
15. Asch DA, Hershey JC, Dekay ML, Pauly MV, Patton JP, Jedziewski MK, *et al*. Carrier screening for cystic fibrosis: Costs and clinical outcomes. *Med Decis Making*. 1998;18:202-12. <https://doi.org/10.1177/0272989X9801800209>
16. Morris JK, Oppenheimer PM. Cost comparison of different methods of screening for cystic fibrosis. *J Med Screen*. 1995;2:22-7. <https://doi.org/10.1177/096914139500200107>
17. Cuckle HS, Richardson GA, Sheldon TA, Quirke P. Cost effectiveness of antenatal screening for cystic fibrosis. *BMJ*. 1995;311:1460-4. <https://doi.org/10.1136/bmj.311.7018.1460>
18. van der Riet AA, van Hout BA, Rutten FF. Cost effectiveness of DNA diagnosis for four monogenic diseases. *J Med Genet*. 1997;34:741-5. <https://doi.org/10.1136/jmg.34.9.741>
19. Wildhagen MF, Hilderink HB, Verzijl JG, Verheij JB, Kooij L, Tijmstra T, *et al*. Costs, effects, and savings of screening for cystic fibrosis gene carriers. *J Epidemiol Community Health*. 1998;52:459-67. <https://doi.org/10.1136/jech.52.7.459>
20. Rowley PT, Loader S, Kaplan RM. Prenatal screening for cystic fibrosis carriers: An economic evaluation. *Am J Hum Genet*. 1998;63:1160-74. <https://doi.org/10.1086/302042>
21. Doyle NM, Gardner MO. Prenatal cystic fibrosis screening in Mexican Americans: An economic analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189:769-74. [https://doi.org/10.1067/S0002-9378\(03\)00717-8](https://doi.org/10.1067/S0002-9378(03)00717-8)
22. Warren E, Anderson R, Proos AL, Burnett LB, Barlow-Stewart K, Hall J. Cost-effectiveness of a school-based Tay-Sachs and cystic fibrosis genetic carrier screening program. *Genet Med*. 2005;7:484-94. <https://doi.org/10.109701.gim.0000178496.91670.3b>
23. Weijers-Poppelaars FA, Wildhagen MF, Henneman L, Cornel MC, Kate LP. Preconception cystic fibrosis carrier screening costs and consequences. *Genet Test*. 2005;9:158-66. <https://doi.org/10.1089/gte.2005.9.158>
24. Wei S, Quigg MH, Monaghan KG. Is cystic fibrosis carrier screening cost effective? *Community Genet*. 2007;10:103-9. <https://doi.org/10.1159/000099088>
25. Maxwell S, Brameld K, Youngs L, Geelhoed E, O'leary P. Informing policy for the Australian context – Costs, outcomes and cost savings of prenatal carrier screening for cystic fibrosis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2010;50:51-9. <https://doi.org/10.1111/j.1479-828X.2009.01111.x>

26. Norman R, van Gool K, Hall J, Delatycki M, Massie J. Cost-effectiveness of carrier screening for cystic fibrosis in Australia. *J Cyst Fibros*. 2012;11:281-7. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2012.02.007>
27. Andrade E, Díaz JA. Revisión sistemática de estudios de costo-efectividad del test de portadores para fibrosis quística. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2016;64:671-7. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v64n4.54489>
28. Roberts T, Schwarz MJ, Kerr-Liddell R, Hinks JL, Super M. Cascade carrier-testing in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev*. 2003;4:293-8. [https://doi.org/10.1016/S1526-0542\(03\)00096-4](https://doi.org/10.1016/S1526-0542(03)00096-4)
29. American College of Obstetricians and Gynecologists. Update on carrier screening for cystic fibrosis. Committee Opinion No 486. *Obstet Gynecol*. 2011;117:1028-31. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31821922c2>
30. Lyon E, Schrijver I, Weck KE, Gonzalez A, Richards CS, Palomaki GE. Molecular genetic testing for cystic fibrosis: Laboratory performance on the College of American Pathologists external proficiency surveys. *Genet Med*. 2015;17:219-25. <https://doi.org/10.1038/gim.2014.93>
31. Andrade E, Díaz JA. Evaluación de la costo-efectividad de la prueba de secuenciación completa del gen *CFTR* por técnica Sanger para portadores asintomáticos en población colombiana de primer, segundo y tercer grado de consanguinidad con historia familiar de fibrosis quística (tesis). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2017.
32. WHO Commission on Macroeconomics and Health. Macroeconomics and health: Investing in health for economic development / report of the Commission on Macroeconomics and Health. World Health Organization. 2001. Fecha de consulta: 5 de septiembre de 2015. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42435>
33. Palomaki EG, Bradley AL, Richards SC, Haddow EJ. Analytic validity of cystic fibrosis testing: A preliminary estimate. *Genet Med*. 2003;5:15-20. <https://doi.org/10.1097/00125817-200301000-00003>
34. Strom MC, Huang D, Chen C, Buller A, Peng M, Quan F, *et al*. Extensive sequencing of the cystic fibrosis transmembrane regulator gene: Assay validation and unexpected benefits of developing a comprehensive test. *Genet Med*. 2003;5:9-14. <https://doi.org/10.1097/00125817-200301000-00002>
35. Pratt M. V, Caggana M, Bridges C, Buller MA, DiAntonio L, Highsmith EW. Development of genomic reference materials for cystic fibrosis genetic testing. *J Mol Diagn*. 2009;11:186-93. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2009.080149>
36. Ioannou L, McClaren BJ, Massie J, Lewis S, Metcalfe SA, Forrest L, *et al*. Population-based carrier screening for cystic fibrosis: A systematic review of 23 years of research. *Genet Med*. 2014;16:207-16. <https://doi.org/10.1038/gim.2013.125>
37. Ioannou L, Delatycki MB, Massie J, Hodgson J, Lewis S. "Suddenly having two positive people who are carriers is a whole new thing"- Experiences of couples both identified as carriers of cystic fibrosis through a population-based carrier screening program in Australia. *J Genet Couns*. 2015;24:987-1000. <https://doi.org/10.1007/s10897-015-9833-9>
38. Duguépéroux I, L'Hostis C, Audrézet MP, Rault G, Frachon I, Bernard R, *et al*. Highlighting the impact of cascade carrier testing in cystic fibrosis families. *J Cyst Fibros*. 2016;15:452-9. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2016.02.013>

Original article

## The role of individual, household, and area of residence factors on self-rated health in Colombian adults: A multilevel study

Beatriz Caicedo-Velásquez<sup>1,2</sup>, María Clara Restrepo-Méndez<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Facultad Nacional de Salud Pública, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación Epidemiología y Bioestadística, Universidad CES, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Oxford Maternal and Perinatal Health Institute (OMPHI), University of Oxford, Oxford, England

**Introduction:** Self-rated health is strongly associated with morbidity and mortality. It is largely influenced by individual factors but also by individuals' social surroundings and environment.

**Objective:** To investigate individual, household, and locality factors associated with self-rated health in Colombian adults.

**Materials and methods:** We conducted a cross-sectional multilevel study using data from national databases on 19 urban localities and 37,352 individuals nested within 15,788 households using a population-based survey. Given the natural hierarchical structure of the data, the estimates of self-rated health related to individual, household, and locality characteristics were obtained by fitting a three-level logistic regression.

**Results:** The adjusted multilevel logistic models showed that at individual level, higher odds of poor self-rated health were found among older adults, persons from low socio-economic status, those living without a partner, with no regular physical activity, and reporting morbidities. At the household level, poor self-rated health was associated with households of low socioeconomic status located near noise sources and factories and in polluted and insecure areas. At the locality level, only poverty was associated with poor self-rated health after adjusting for individual and household variables.

**Conclusions:** These results highlight the need for a more integrated framework when designing and implementing strategies and programs that aim to improve health conditions in urban populations in Latin America.

**Keywords:** Residence characteristics; social conditions; multilevel analysis; adult; Colombia.

### Efecto de las condiciones individuales, del hogar y del área de residencia en la autopercepción de su salud en adultos colombianos: un estudio multinivel

**Introducción.** La autopercepción de la salud se asocia con la morbilidad y la mortalidad debido principalmente al efecto de las condiciones individuales y las características sociales y del ambiente en el que viven las personas.

**Objetivo.** Investigar los factores individuales, del hogar y de la localidad asociados con la autopercepción de la salud en adultos colombianos.

**Materiales y métodos.** Se llevó a cabo un estudio transversal. La información sobre las 19 localidades urbanas consideradas se obtuvo de bases de datos nacionales, en tanto que los datos sobre los 37.352 individuos anidados en 15.788 hogares provinieron de una encuesta de base poblacional. Dada la estructura jerárquica de los datos, las estimaciones del efecto de las variables individuales, del hogar y de la localidad sobre la autopercepción de la salud se hicieron utilizando un modelo de regresión logística de tres niveles.

**Resultados.** Los modelos multinivel ajustados evidenciaron que a nivel individual había una mayor probabilidad de tener una peor percepción de la salud entre adultos mayores, personas de bajo nivel socioeconómico, sin compañero, físicamente inactivos y con enfermedades. A nivel de hogar, la peor percepción de la salud se asoció con la pertenencia a familias de bajo nivel socioeconómico, residentes cerca de fábricas, áreas contaminadas, inseguras y de alto ruido. Por último, a nivel de localidad y después del ajuste por variables individuales y del hogar, la residencia en localidades pobres aumentó la probabilidad de tener una peor percepción de la propia salud.

**Conclusiones.** Los resultados evidencian la necesidad de considerar un marco conceptual más amplio en el momento de diseñar e implementar estrategias y programas que apunten al mejoramiento de las condiciones de salud de las poblaciones urbanas en Latinoamérica.

**Palabras clave:** características residenciales; condiciones sociales; análisis multinivel; adulto; Colombia.

**Received:** 20/11/2018

**Accepted:** 28/08/2019

**Published:** 04/09/2019

#### Citation:

Caicedo-Velásquez B, Restrepo-Méndez MC. The role of individual, household, and area of residence factors on self-rated health in Colombian adults: A multilevel study. *Biomédica*. 2020;40:296-308. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4818>

#### Corresponding author:

Beatriz Caicedo-Velásquez, Facultad Nacional de Salud Pública, Universidad de Antioquia, Calle 62 No 52-59, Medellín, Colombia  
Telephone: (57) (315) 612 0858  
[beatriz.caicedo@udea.edu.co](mailto:beatriz.caicedo@udea.edu.co)

#### Author contributions:

Beatriz Caicedo-Velásquez: main idea, statistical design, data analysis, and interpretation of findings  
María Clara Restrepo-Méndez: development work, writing of the manuscript, and interpretation of the findings

#### Funding:

This research project was funded by the *Convocatoria de Sostenibilidad CODI 2016-2017 of Universidad de Antioquia*. María Clara Restrepo-Méndez was supported by the Brazilian Higher Education Research Council (*Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES*).

#### Conflicts of interest:

The authors declare no conflicts of interest.

Self-rated health is an indicator of the quality of life that is related to the self-perception of an individual's health status (1,2). Self-perception is a practical method for collecting information on individual health since it entails a single aspect: a subject's perception of his or her health status (1). This information is useful for planning, implementing, and monitoring health initiatives and programs as it has been found that self-rated health is strongly associated with morbidity and mortality (3-8), a relationship that remains after adjusting for physical, sociodemographic, and behavioural factors (3-8).

Self-rated health is influenced by individual factors such as sex, age, race, ethnicity, education levels, wealth, and employment status (1,9-13). Furthermore, common factors among groups of people like their social surroundings and environment play a role in the self-perception of their health (14-23).

It should be mentioned that the term contextual or neighbourhood effects involves both structural and social aspects. Structural characteristics refer to the physical and natural environment where individuals live measured through socio-demographic characteristics such as poverty, family structure, unemployment, and the availability of education, employment, transportation, health care, grocery shopping, and recreational services (24). The social characteristics refer to the social and organizational processes or collective aspects of community life that may influence residents' behaviour (19), in other words, social networks, control, cohesion, norms for support, perceptions of violence, and collective efficacy (25). Some studies that have examined the influence of neighbourhood-level factors on self-rated health indicate that deprivation, lower socio-economic status, poor-quality residential environment and transport, drug misuse, rubbish on the streets, unsafety, and dissatisfaction with green spaces are associated with fair to poor self-rated health (3,17,26-30).

The mechanisms of the relation between contextual factors and poor self-rated health are not clear. Some authors suggest that neighbourhood problems may constitute a source of chronic stress, which may increase the risk of poor self-perception of health (3,31). Documenting contextual factors that may contribute to modify such perception is important for the design and implementation of effective prevention strategies and interventions. It is important to better understand how group and individual factors interrelate in predicting self-rated individual health. In general, researchers in this field have not properly taken into account the role of individual and family influences while those focused on individual and family influences have generally disregarded the role of neighbourhood influences. Therefore, we need to develop conceptual frameworks incorporating various levels of analysis, as well as due consideration to potential mechanisms of relation as the lack of an appropriate theoretical framework may lead to deceptive conclusions. A common approach to such analysis is the multilevel design and its hierarchical model that allows the integration of independent variables from different levels of analysis (32-35).

There are relatively few studies in Latin America using an approach that simultaneously considers how individual and contextual aspects contribute to self-rated health status (1,16,36) and even more scarce in Colombia, especially in Bogotá, which is considered one of Latin America's largest metropolitan areas. Understanding these associations is relevant in the light of the current Colombian ten-year public health plan and the Sustainable Development Goals for a healthy life and well-being for all (SDG 3), and inclusive, safe, resilient, and sustainable cities and human settlements (SDG 11). Consequently, this study aimed at examining the relationships



between poor self-rated health and individual, family, and locality factors among Colombian adults living in Bogotá especially focused on the effects of locality structural and social conditions based on a conceptual model linking locality characteristics and poor self-rated health and on a multilevel model to evaluate the effect of locality conditions in adults' poor self-rated health and the interaction between individual and family factors. To our knowledge, this is the first study that explores contextual effects and self-rated health among adults in a Colombian urban context.

## Materials and methods

### *Design and study population*

Bogotá is the capital city of Colombia with a population of 7,467,000 inhabitants of whom 99% live in the urban area. The city is divided geographically and administratively into 20 localities. For the analysis, we used data from the multipurpose survey carried out in Bogotá in 2011 by the *Departamento Administrativo Nacional de Estadística*, DANE (37). The survey is a population-based study that collects information on the social, economic, and general living conditions of the population in Bogotá's 19 localities (excluding the semi-rural area of Sumapaz).

We used a probabilistic clustered sample stratified by socioeconomic status where the observational units were the households and non-institutionalized individuals. The parameters for sample estimation were 5% relative standard error, 95% confidence level, and 10% prevalence of the main health indicators. The detailed account of the methods used for this population survey is available (37,38). We used a cross-sectional design including 20-year-old and older individuals who completed the interview and provided information on their self-rated health. These data respond to a natural hierarchy structure with 37,352 individuals nested within 15,788 households from 19 urban localities.

### *Study variables*

We used a questionnaire to collect a wide range of demographic and socio-economic information about individual and household conditions. Self-rated health was classified on a 1 to 4 scale: 'Very good', 'good', 'poor', and 'very poor'. Previous studies have suggested that self-rated health is a reliable indicator of an individual's current health with high predictive validity (39). To compare the results with those from other studies the original categories were recorded into a binary outcome: 0 for very good and good, and 1 for poor or very poor.

The following individual characteristics were also taken from the questionnaire and included in the analysis as independent variables: gender (male, female), age (20-29, 30-39, 40-49, 50-59,  $\geq 60$ ), schooling ( $\leq 5$ , 6-11,  $> 11$  years), marital status (with or without a partner), working mainly in the last week (yes/no), regular physical activity (yes/no), and morbidities (none, one-two, or three or more of the following morbidities: cardiovascular diseases, respiratory diseases, kidney diseases, digestive diseases, arthritis, diabetes, malign tumours, mental diseases, or asthma/allergies). At the household level, we explored the effect of socio-economic status (low, middle, high), living in a noisy area (yes/no), contamination problems in the area (yes/no), insecurity (yes/no), close to rubbish dumps (yes/no), close to factories (yes/no), and presence of illicit drug markets (yes/no).



Data on the socio-economic characteristics of the locality were taken from official national datasets reported by DANE (37,40). At the locality level, we included:

- 1) quartiles of the Gini coefficient to measure the level of income inequality in the localities (values between 0 and 1) where the lowest quintile represents more equal localities and the highest one more unequal localities;
- 2) quartiles of poverty measuring the proportion of residents with disadvantageous life conditions regarding schooling, employment, access to health services, and housing where localities were categorized into quintiles, with the lowest quintile comprising the richest group of localities and the highest one the poorest localities (40);
- 3) homicide rate (per 100,000 inhabitants);
- 4) the percentage of population perceiving increased insecurity in their locality, and
- 5) population density defined as the number of residents per square meter (m<sup>2</sup>).

### **Conceptual model**

The analysis was based on a hierarchical conceptual model that not only considered a proposed hierarchy of causal relationships but also used criteria for selecting variables beyond purely statistical considerations (41). At the individual level, the most distal determinants were age and gender, schooling, marital status, and work-related status. The second level included the effects of being physically active and morbidities. At the household level, we included the effects of socio-economic status and location characteristics (living close to a noisy area with pollution problems, insecurity, and exposure to rubbish dumps, close to factories, and to illicit drug markets. Finally, at the locality level, we examined the distal effect of social conditions (Gini coefficient and poverty) which in their turn may have had a direct influence on the variables at the second level, the effects of the homicide rate, percentage of population perceiving an increase in insecurity in their locality, and population density.

*Analytical procedures: Hierarchical analysis with a multilevel logistic model.*

Estimates of poor self-rated health associated with individual, household, and locality characteristics and their respective 95% confidence intervals were obtained by fitting a logistic regression model with random intercept, fixed coefficients, and a three-level structure with individuals at level 1, households at level 2, and localities at level 3:

$$y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 x_{ijk} + \beta_2 x_{jk} + \beta_3 x_k + u_{0jk} + v_{0k} \quad (1),$$

where  $y_{ijk}$  is the poor self-rated health condition for individual  $i$  in household  $j$  within locality  $k$ . The log-probability of poor self-rated health for all individuals in all localities is represented by  $\beta_0$ . The individual, household, and locality variables are represented by  $x_{ijk}$ ,  $x_{jk}$ , and  $x_k$ , respectively. These were transformed into odds ratios to facilitate comparisons. Finally, the household- and locality-level random effects are represented by  $u_{0jk}$  and  $v_{0k}$  and they measure household and locality differences conditioned to the variables that are specified in the model. We assumed a normal distribution with the respective variances: expressed on a logit scale.

The level 1 unexplained variance,  $\sigma^2$ , assumes a Bernoulli distribution given the binary nature of the response. To indicate the percentage of variance due to differences among localities, the intra-class correlation coefficient

was estimated using the ratio of the locality-level variance and the total variance. Moreover, to better quantify the effects of locality and understand their size, the locality-level variance was transformed to a median odds ratio (MOR) (42) by translating the locality-level variance into an odds ratio that quantified the variation among localities randomly choosing and comparing any two individuals from two different localities. This may be interpreted as the increased risk of poor self-rated health that an individual would have on average if he or she moved to another locality with a higher risk of poor health (43), which was estimated as:

$$MOR = \exp(0,95\sqrt{(2 * \sigma_{\sigma_0}^2)}) * 0,6745$$

(2),

where 0.6745 is the 75<sup>th</sup> percentile of the cumulative distribution function of the standard normal distribution. The uncertainty interval of the MOR (Bayesian confidence intervals) was derived from the monitoring chain of the MCMC estimates and the above equations (44).

In the hierarchical conceptual model, the analysis consisted of a sequence of six models of growing complexity. The first model was a null model or model without covariates. The second one included the effect of the most distal determinants at individual level (age and gender, schooling, marital status, and work-related status). The third model included the effects of being physically active and morbidities. The fourth one explored the effect of household conditions (socio-economic status, location, and characteristics). Finally, in the last model, we examined the effect of the Gini coefficient and poverty, as well as the effect of the percentage of population perceiving an increase in insecurity of the locality and population density.

We used chi-squared tests with a significance level of 20% to identify potential confounders. This pre-specified cut-off value has proven to better identify the presence of confounding effects than using a cut-off of 0.05 (45,46). We also used a chi-squared test for heterogeneity to analyze nominal variables. For ordinal variables, such as the neighbourhood variables, for which we hypothesized dose-response effects, we used a linear trend test.

Given that the urban localities to characterize differences and estimate the effect of some associated factors were only 19, models were estimated with full Bayesian procedures to estimate exactly the parameters (44).

To validate the results of the random-effects model, the multilevel logistic model was re-specified as a fixed-effects model and the DIC index was used to choose between the fixed and random effects approach where the model with the lower DIC was preferred as a trade-off between complexity and fitness (47). Both methods gave similar point estimates, but the DIC index indicated better performance for the multilevel method (data not shown). The results we are presenting corresponded to the multilevel regression analysis.

The analyses were done with the MLwiN v2.31 statistical software package using the runmlwin command (48) with full Bayesian MCMC methods and minimally informative priors. Following Draper's (49) good-practice recommendations, a burn-in of 500 iterations was used with monitoring for another 50,000 iterations.

The analyses were based on publicly available data from a national survey and official national datasets. Ethics procedures were the responsibility of the institutions that commissioned, funded, or administered the surveys/data collection.

## Results

Table 1 describes individuals, households, and locality characteristics. More than half of the respondents were women, 48% were aged 20 to 39 years old, a third had more than 11 years of schooling, two thirds had a partner, and 67% reported having a job during the previous week. Regarding their health conditions, around a fifth of the individuals reported being physically active and 60% reported not suffering from morbidities. Most of the households were located in middle- and low-socioeconomic status areas. A third of them were located in areas with noise, contamination, and insecurity problems, close to rubbish dumps, industries, and illicit drug markets. On average, localities had a population density of 181 inhabitants/m<sup>2</sup>, a homicide rate of 42 homicides per 100,000 inhabitants, 45% of their residents perceived an increase in insecurity, the Gini coefficient at the lowest inequality quartile was 0.39 while at the highest it was 0.55. At least 22% of the population in the poorer localities lived in poverty.

The prevalence of poor self-rated health in the population was 24% (95% confidence intervals: 21%-26%). We found strong evidence of variation on the prevalence of poor self-rated health among localities ( $p < 0.001$ ). Figure 1 shows the scale of the differences plotting the distribution of localities according to the intervals of the prevalence of poor self-rated health predicted from the null model by means of the simulation-based procedures of the MLwiN customized predictions (50). The differential prevalence showed that individuals in northern Bogota had better self-rated health than those from southern Bogota.

The locality-level variance of 0.09 translated into a 1.31 MOR (95% CI: 1.16-1.42), which suggests significant differences between localities. For instance, if an individual were to move from a locality with a low prevalence of poor self-rated health to one with high prevalence, his or her individual odds were around 31% greater than if he or she stayed in a lower risk locality.

Table 2 shows the prevalence of poor self-rated health by independent variables. The crude analysis showed that individuals older than 60 years had around 65% higher odds of having poor self-rated health compared to those aged 20-29 years. Having less than five years of education increased five times the odds of poor self-rated health compared to those with 11 years or more. Similarly, women, people without a partner and/or a job during the previous week, those physically inactive, and those suffering from three or more morbidities had much higher odds for poor self-rated health when compared to their reference categories. Additionally, people living in households from low socio-economic status noisy areas, with contamination and insecurity problems, close to rubbish dumps, factories, and illicit drug markets showed greater odds for poor self-rated health when compared with their reference categories. Similarly, localities with low inequality, high poverty level, high rate of homicides, and high population density showed greater odds for poor self-rated health. The insecurity level of the localities was not associated with self-rated health.

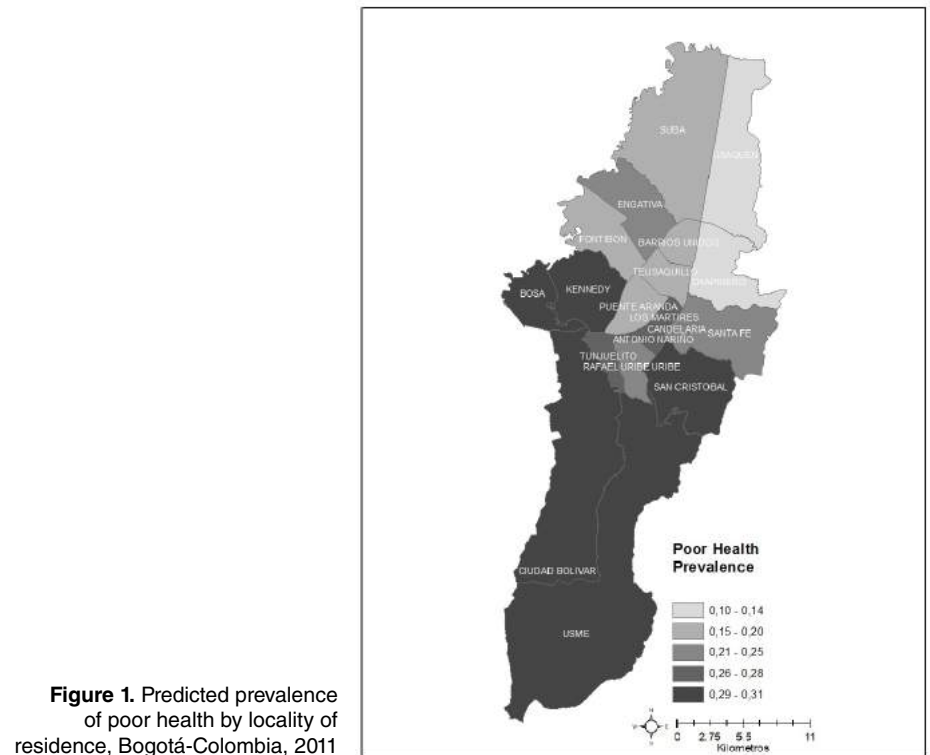
Adjusted analyses were carried out according to the hierarchical levels described in the methods section. After adjustment, the odds of poor self-rated health for people older than 50 years remained higher when compared to those aged 20-19 years old. The association with the years of education, not having a partner and/or a job, being physically inactive, and suffering from three or more morbidities also remained significant. The association of residing in poor households in areas with noise, contamination, and security

**Table 1.** Studied population according to individual, household, and locality characteristics, Bogotá, Colombia, 2011

Variable	n	%
Individual level (n=37,352)		
Gender		
Male	16,846	45.10
Female	20,506	54.90
Age		
20-29	9,681	25.92
30-39	8,155	21.83
40-49	7,475	20.01
50-59	5,824	15.59
≥60	6,217	16.64
Schooling (years with passing scores)		
≤5	10,575	29.13
6-11	13,644	37.58
> 11	12,088	33.29
Marital status		
With a partner	24,53	65.67
Without a partner	12,822	34.33
Working		
Yes	25,127	67.27
No	12,225	32.73
Regular physical activity		
Yes	7,939	21.25
No	29,413	78.75
Morbidities		
0	22,48	60.18
1-2	12,735	34.09
≥3	2,137	5.72
Household level (n=15,788)		
Socio-economic status		
Low	6,829	43.30
Middle	7,974	50.50
High	780	4.90
Located within a noisy area		
Yes	6,269	39.70
No	9,515	60.30
Located within an area with contamination problems		
Yes	7,517	47.60
No	8,269	52.40
Located within an area with insecurity problems		
Yes	12,095	76.60
No	3,696	23.40
Close to rubbish dump		
Yes	2,047	13.00
No	13,741	87.00
Close to factories		
Yes	3,426	21.70
No	12,362	78.30
Close to drug markets		
Yes	4,403	27.90
No	11,385	72.10
Locality level (n=19)		
Gini coefficient		
Quartile 1	5	0.39
Quartile 2	4	0.42
Quartile 3	5	0.48
Quartile 4	5	0.55
Population in poverty (%)		
Quartile 1	6	5.61
Quartile 2	5	10.30
Quartile 3	4	16.00
Quartile 4	4	21.90
Mean (SD) homicide rate x 100,000	42.35	(36.35)
Mean (SD) of population perceiving an increase in the insecurity (%)	45.05	(7.65)
Mean (SD) population density (m <sup>2</sup> )	180.72	(56.41)

SD: Standard deviation

m<sup>2</sup>: Squared meter



**Figure 1.** Predicted prevalence of poor health by locality of residence, Bogotá-Colombia, 2011

problems, close to factories and illicit drug markets was virtually unaltered by adjustment. We found a dose-response relationship between locality poverty and odds of poor self-rated health. Otherwise, the association of gender, household close to rubbish dumps, Gini coefficient, homicide, and population density with poor self-rated health disappeared after adjustment (table 2).

In the adjusted model, the between-locality variance decreased to 0.004. This equates to a 1.06 MOR (95% CI: 1.00; 1.11), which means that after considering the effects of individual, household, and locality characteristics there are no unexplained differences between localities. This result is also shown by the adjusted ICC of 0.048% in the final model.

## Discussion

We examined the effect of context- and individual-related variables on poor self-rated health in Colombian adults living in a metropolitan area. Our results confirmed that the characteristics of individuals, households, and place of residence influenced individual health perception.

We found greater odds of poor self-rated health in individuals aged 50 years or older, those with lower education, without a partner and/or employment, non-physically-active individuals on a regular basis, and those who reported more than three morbidities. After adjusting for individual characteristics, household characteristics were also associated with poor self-rated health. Low socioeconomic households located in areas with problems of noise, pollution, neighbourhood insecurity, and near factories or illicit drug markets showed greater odds of poor self-rated health. Additionally, localities with a higher proportion of poverty showed greater odds of poor self-rated health independently from individual and household factors. These findings are consistent with other studies showing strong associations between physical conditions of the place of residence and individual health

**Table 2.** Prevalence, crude, and adjusted analyses of the association between individual, household, and locality-related variables and poor or very poor health, Bogotá D.C., Colombia, 2011

Variable	Crude analysis			Adjusted analysis**	
	Prevalence	OR (CI 95%)	p-value	OR (CI 95%)	p-value
Individual level					
Gender			0.002		0.2
Male	24.05	Reference		Reference	
Female	26.43	1.08 (1.03; 1.14)		1.03 (0.98; 1.09)	
Age			<0.001		<0.001*
20-29	22.21	Reference		Reference	
30-39	18.12	0.85 (0.78; 0.93)		0.78 (0.72; 0.85)	
40-49	22.96	1.04 (0.96; 1.13)		1.05 (0.97; 1.13)	
50-59	29.38	1.28 (1.18; 1.40)		1.33 (1.23; 1.44)	
≥60	38.88	1.65 (1.52; 1.80)		1.46 (1.35; 1.59)	
Schooling (years with passing scores)			<0.001		<0.001*
≤5	43.35	4.89 (4.38; 5.45)		3.75 (3.49; 4.03)	
6-11	23.36	1.95 (1.76; 2.16)		1.87 (1.74; 2.01)	
> 11	13.33	Reference		Reference	
Marital status			<0.001		<0.001
With a partner	22.48	Reference		Reference	
Without a partner	30.87	1.62 (1.49; 1.75)		1.27 (1.20; 1.34)	
Working			<0.001		<0.001
Yes	17.99	Reference		Reference	
No	40.51	3.19 (2.94; 3.46)		2.38 (2.25; 2.51)	
Regular physical activity			<0.001		<0.001
Yes	21.15	Reference		Reference	
No	26.5	1.25 (1.14; 1.37)		1.41 (1.32; 1.51)	
Morbidities			<0.001		<0.001*
0	11.46	Reference		Reference	
1-2	41.85	5.65 (5.16; 6.19)		5.00 (4.72; 5.31)	
≥3	73.33	22.93 (19.11; 27.51)		17.02 (15.17; 19.08)	
Household level					
Socio-economic status			<0.001		<0.001*
Low	30.03	2.90 (2.28; 3.70)		2.21 (1.78; 2.74)	
Middle	22.67	2.05 (1.62; 2.59)		1.75 (1.42; 2.14)	
High	8.71	Reference		Reference	
Located within a noisy area			<0.001		<0.001
Yes	28.53	1.32 (1.22; 1.43)		1.12 (1.06; 1.19)	
No	23.27	Reference		Reference	
Located within an area with contamination problems			<0.001		<0.001
Yes	27.95	1.29 (1.20; 1.40)		1.15 (1.08; 1.22)	
No	23.00	Reference		Reference	
Located within an area with insecurity problems			<0.001		<0.001
Yes	27.47	1.53 (1.39; 1.69)		1.20 (1.12; 1.30)	
No	17.98	Reference		Reference	
Close to rubbish dumps			<0.001		0,889
Yes	31.57	1.31 (1.17; 1.47)		1.01 (0.93; 1.09)	
No	24.42	Reference		Reference	
Close to factories			0.01		<0,001
Yes	27.81	1.53 (1.39; 1.69)		1.14 (1.06; 1.22)	
No	24.65	Reference		Reference	
Close to drug markets			<0.001		<0,001
Yes	30.87	1.53 (1.39; 1.69)		1.18 (1.11; 1.26)	
No	23.24	Reference		Reference	
Locality level					
Gini coefficient			0.004		0,588*
Quartile 1	29.72	1.73 (1.26; 2.39)		1.27 (0.97; 1.65)	
Quartile 2	25.05	1.36 (0.96; 1.91)		1.08 (0.93; 1.27)	
Quartile 3	25.33	1.39 (1.00; 1.91)		1.09 (0.94; 1.28)	
Quartile 4	19.79	Reference		Reference	
Population in poverty (%)			<0.001		0.003*
Quartile 1	18.84	Reference		Reference	
Quartile 2	25.54	1.50 (1.18; 1.92)		1.31 (1.12; 1.52)	
Quartile 3	27.64	1.68 (1.30; 2.18)		1.25 (1.06; 1.47)	
Quartile 4	30.61	1.96 (1.51; 2.53)		1.36 (1.15; 1.61)	
Mean (SD) homicide rate x 100,000		1.00 (1.00; 1.01)	0.04	1.00 (0.99; 1.00)	0.476
Mean (SD) of population perceiving an increase in the insecurity (%)		1.01 (0.98; 1.02)	0.57	0.99 (0.97; 1.01)	0.771
Mean (SD) population density (m <sup>2</sup> )		1.00 (1.00; 1.01)	0.01	0.99 (0.96; 1.00)	0.570

\* Wald test for linear trend

\*\* Adjusted for all variables in the same level or in higher levels with p&lt;0.2

SD: Standard deviation

CI: Confidence interval

(3,16,17,21,32,51). In general, poorer areas usually present characteristics that are unfavourable to good health such as inadequate healthcare networks, absence of areas for practicing physical activities, a poorly organized physical environment (accumulated garbage, dirtiness, pollution, noise, overcrowding), deficient basic sanitation, transportation, and education, insufficient levels of social cohesion and participation, and greater exposure to violence (16-18,23,32,51).

The main methodological limitation of studies that investigate context-related characteristics is the definition of the geographic area whose characteristics may be relevant to the specific health outcome under study (18). As we were interested in analyzing the association of the physical environment and the structural characteristics of the place of residence with self-perceived health, the geographically administrative definition of localities was relevant to us as we think it validates the individual perception of these areas to a certain extent given that the localities are previously defined political and administrative units and, therefore, a natural grouping for the respondents. The greatest advantage of using this geographical unit in the analysis is the feasibility of obtaining variables measured at that level. The main disadvantage is that such grouping may not reflect the true context in which individuals are exposed to contextual risks. An additional limitation concerns the study design. Studies with a cross-sectional design are limited to identifying associations rather than causal relationships and reverse causality may exist, especially at individual-level variables. For instance, it can be argued that individuals reported poorer health because they were unemployed or that they were unemployed because of their poor health. Thus, longitudinal studies are important to confirm the associations reported here. Furthermore, we cannot rule out the possibility of residual confounding factors that were not explored, such as individual income or wealth, and of lack of precision in certain measurements of socioeconomic characteristics, such as education and employment status.

Stratified analyses exploring sex differences may have been important in previous studies as they showed that self-reported health and the use of health services was worse in women than in men (16,52). Those findings are important as they suggest that women might benefit more from better health services or suffer more due to a lack of them in a wealthy or poor area, respectively. However, we did not find differences by sex in our results (data available on request). Additional analyses exploring conflicting findings among studies regarding sex differences are needed.

To understand the multifaceted nature of poor self-perceived health, multilevel conceptual models are needed to explain the interaction of risk factors at different levels. This study implemented an integrated theoretical framework combining individual and contextual theories on poor health, arranging variables on logical temporal order, guiding the adjusted analysis, and, consequently, improving the estimations of the effects of locality-, family-, and individual-related characteristics of poor health self-perception. Our study showed an association between context-related variables and self-rated health status in a Colombian urban population. Further studies will be required to confirm these associations in different populations (rural, from other Colombian geographical regions or Latin American metropolitan areas), study designs, and health-related outcomes. These findings suggest that health policies and interventions aimed at improving people's health and quality of life should include integral and multisector initiatives according

to specific needs per area. Area-based strategies should take into account concerted approaches ensuring a focus on context-related variables rather than on individual-level strategies alone. Implementing these area-based strategies in Colombia might help towards the achievement of the SDGs and the Colombian Public Health Plan. To date, no study in Colombia has simultaneously considered the effect of locality, family, and individual factors on adult health perception and such approach has been scarcely used in low- and middle-income countries. Therefore, we hope our paper will contribute to the understanding of these associations in an urban area in Colombia in favour of policy-making and interventions to improve the health and well-being of individuals living in urban environments.

## References

- Alazraqui M, Diez Roux A V, Fleischer N, Spinelli H. Self-rated health and social inequalities, Buenos Aires, Argentina, 2005. *Cad Saúde Pública*. 2009;25:1990-2000. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2009000900013>
- Velarde-Jurado E, Avila-Figueroa C. Evaluation of the quality of life. *Salud Pública Mex*. 2002;44:349-61.
- Agyemang C, van Hooijdonk C, Wendel-Vos W, Lindeman E, Stronks K, Droomers M. The association of neighbourhood psychosocial stressors and self-rated health in Amsterdam, The Netherlands. *J Epidemiol Community Health*. 2007;61:1042-9. <https://doi.org/10.1136/jech.2006.052548>
- Heistaro S, Jousilahti P, Lahelma E, Vartiainen E, Puska P. Self-rated health and mortality: A long term prospective study in eastern Finland. *J Epidemiol Community Health*. 2001;55:227-32. <https://doi.org/10.1136/jech.55.4.227>
- Idler EL, Angel RJ. Self-rated health and mortality in the NHANES-I Epidemiologic Follow-up Study. *Am J Public Heal*. 1990;80:446-52. <https://doi.org/10.2105/AJPH.80.4.446>
- Idler EL, Benyamini Y. Self-rated health and mortality: A review of twenty-seven community studies. *J Health Soc Behav*. 1997;38:21-37.
- Idler EL, Kasl S V, Lemke JH. Self-evaluated health and mortality among the elderly in New Haven, Connecticut, and Iowa and Washington counties, Iowa, 1982-1986. *Am J Epidemiol*. 1990;131:91-103. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115489>
- Mossey JM, Shapiro E. Self-rated health: A predictor of mortality among the elderly. *Am J Public Health*. 1982;72:800-8. <https://doi.org/10.2105/AJPH.72.8.800>
- Benavides FG, Benach J, Diez-Roux A V, Roman C. How do types of employment relate to health indicators? Findings from the second European survey on working conditions. *J Epidemiol Community Health*. 2000;54:494-501. <https://doi.org/10.1136/jech.54.7.494>
- Benyamini Y, Leventhal EA, Leventhal H. Gender differences in processing information for making self-assessments of health. *Psychosom Med*. 2000;62:354-64.
- Dachs JN. Factors determining inequalities in the health condition self-assessment in Brazil: Analysis of data of PNAD/1998. *Cien Saúde Colet*. 2002;7:641-57.
- Heistaro S, Laatikainen T, Vartiainen E, Puska P, Uutela A, Pokusajeva S, *et al*. Self-reported health in the Republic of Karelia, Russia and in north Karelia, Finland in 1992. *Eur J Public Health*. 2001;11:74-80. <https://doi.org/10.1093/eurpub/11.1.74>
- Mansur C, Amick BC, Harrist RB, Franzini L. Social capital, income inequality, and self-rated health in 45 countries. *Soc Sci Med*. 2008;66:43-56. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2007.08.015>
- Kawachi I, Subramanian SV. Neighbourhood influences on health. *J Epidemiol Community Health*. 2007;61:3-4. <https://doi.org/10.1136/jech.2005.045203>
- Macintyre S, Ellaway A, Cummins S. Place effects on health: How can we conceptualise, operationalise and measure them? *Soc Sci Med*. 2002;55:125-39.
- Cremonese C, Backes V, Olinto MT, Dias-da-Costa JS, Pattussi MP. Neighborhood sociodemographic and environmental contexts and self-rated health among Brazilian adults: A multilevel study. *Cad Saúde Pública*. 2010;26:2368-78. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2010001200015>



17. Cummins S, Stafford M, Macintyre S, Marmot M, Ellaway A. Neighbourhood environment and its association with self rated health: Evidence from Scotland and England. *J Epidemiol Community Health*. 2005;59:207-13. <https://doi.org/10.1136/jech.2003.016147>
18. Diez Roux AV, Am JP. Investigating neighborhood and area effects on health. *Am J Public Health*. 2001;91:1783-9. <https://doi.org/10.2105/ajph.91.11.1783>
19. Diez Roux AV. Neighborhoods and health: Where are we and where do we go from here? *Rev Epidemiol Santé Publique*. 2007;55:13-21.
20. Pampalon R, Hamel D, De Koninck M, Disant MJ. Perception of place and health: Differences between neighbourhoods in the Quebec City region. *Soc Sci Med*. 2007;65:95-111. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2007.02.044>
21. Patel K V, Eschbach K, Rudkin LL, Peek MK, Markides KS. Neighborhood context and self-rated health in older Mexican Americans. *Ann Epidemiol*. 2003;13:620-8. [https://doi.org/10.1016/S1047-2797\(03\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S1047-2797(03)00060-7)
22. Poortinga W, Dunstan FD, Fone DL. Neighbourhood deprivation and self-rated health: The role of perceptions of the neighbourhood and of housing problems. *Health Place*. 2008;14:562-75. <https://doi.org/10.1016/j.healthplace.2007.10.003>
23. Poortinga W, Dunstan FD, Fone DL. Perceptions of the neighbourhood environment and self rated health: A multilevel analysis of the Caerphilly Health and Social Needs Study. *BMC Public Health*. 2007;7:285. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-285>
24. Mrug S, Windle M. Mediators of neighborhood influences on externalizing behavior in preadolescent children. *J Abnorm Child Psychol*. 2009;37:265-80. <https://doi.org/10.1007/s10802-008-9274-0>
25. Sampson RJ, Raudenbush SW, Earls F. Neighborhoods and violent crime: A multilevel study of collective efficacy. *Science*. 1997;277:918-24. <https://doi.org/10.1126/science.277.5328.918>
26. Reijneveld SA, Verheij RA, De Bakker DH. The impact of area deprivation on differences in health: Does the choice of the geographical classification matter? *J Epidemiol Community Health*. 2000;54:306-13. <https://doi.org/10.1136/jech.54.4.306>
27. Reijneveld SA. Neighbourhood socioeconomic context and self reported health and smoking: A secondary analysis of data on seven cities. *J Epidemiol Community Health*. 2002;56:935-42. <https://doi.org/10.1136/jech.56.12.935>
28. Wen M, Browning CR, Cagney KA. Poverty, affluence, and income inequality: Neighborhood economic structure and its implications for health. *Soc Sci Med*. 2003;57:843-60. [https://doi.org/10.1016/S0277-9536\(02\)00457-4](https://doi.org/10.1016/S0277-9536(02)00457-4)
29. Franzini L, Caughy M, Spears W, Fernández-Esquer ME. Neighborhood economic conditions, social processes, and self-rated health in low-income neighborhoods in Texas: A multilevel latent variables model. *Soc Sci Med*. 2005;61:1135-50. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2005.02.010>
30. Stafford M, Marmot M. Neighbourhood deprivation and health: Does it affect us all equally? *Int J Epidemiol*. 2003;32:357-66. <https://doi.org/10.1093/ije/dyg084>
31. Steptoe A, Feldman PJ. Neighborhood problems as sources of chronic stress: Development of a measure of neighborhood problems, and associations with socioeconomic status and health. *Ann Behav Med*. 2001;23:177-85. [https://doi.org/10.1207/S15324796ABM2303\\_5](https://doi.org/10.1207/S15324796ABM2303_5)
32. Wong IO, Cowling BJ, Lo S V, Leung GM. A multilevel analysis of the effects of neighbourhood income inequality on individual self-rated health in Hong Kong. *Soc Sci Med*. 2009;68:124-32. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2008.09.064>
33. Diez Roux AV. A glossary for multilevel analysis. *J Epidemiol Community Health*. 2002;56:588-94. <https://doi.org/10.1136/jech.56.8.588>
34. Diez-Roux AV. Multilevel analysis in public health research. *Annu Rev Public Health*. 2000;21:171-92. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.21.1.171>
35. Duncan C, Jones K, Moon G. Context, composition and heterogeneity: Using multilevel models in health research. *Soc Sci Med*. 1998;46:97-117. [https://doi.org/10.1016/S0277-9536\(97\)00148-2](https://doi.org/10.1016/S0277-9536(97)00148-2)
36. Santos SM, Chor D, Werneck GL, Coutinho ES. Association between contextual factors and self-rated health: A systematic review of multilevel studies. *Cad Saúde Pública*. 2007;23:2533-54. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X200700110000>

37. Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Encuesta Multipropósito para Bogotá Distrito Capital: EMB 2011 Información general. Accessed: March 13, 2018. Available from: [http://microdatos.dane.gov.co/index.php/catalog/189/related\\_materials](http://microdatos.dane.gov.co/index.php/catalog/189/related_materials)
38. Alcaldía Mayor Santa Fé de Bogotá. Encuesta Multipropósito para Bogotá EMB 2011-2014. Accessed: March 13, 2018. Available from: [http://www.sdp.gov.co/sites/default/files/presentacion\\_03\\_febre\\_2016.pdf](http://www.sdp.gov.co/sites/default/files/presentacion_03_febre_2016.pdf)
39. Diez-Roux AV, Link BG, Northridge ME. A multilevel analysis of income inequality and cardiovascular disease risk factors. *Soc Sci Med.* 2000;50:673-87. [https://doi.org/10.1016/S0277-9536\(99\)00320-2](https://doi.org/10.1016/S0277-9536(99)00320-2)
40. Alcaldía Mayor Santa Fé de Bogotá. Indicadores de pobreza. Encuesta multipropósito. Bogotá D.C.: Alcaldía Mayor; 2011.
41. Victora CG, Huttly SR, Fuchs SC, Olinto MT. The role of conceptual frameworks in epidemiological analysis: A hierarchical approach. *Int J Epidemiol.* 1997;26:224-7. <https://doi.org/10.1093/ije/26.1.224>
42. Merlo J, Chaix B, Ohlsson H, Beckman A, Johnell K, Hjerpe P, *et al.* A brief conceptual tutorial of multilevel analysis in social epidemiology: Using measures of clustering in multilevel logistic regression to investigate contextual phenomena. *J Epidemiol Community Health.* 2006;60:290-7. <https://doi.org/10.1136/jech.2004.029454>
43. Larsen K, Merlo J. Appropriate assessment of neighborhood effects on individual health: Integrating random and fixed effects in multilevel logistic regression. *Am J Epidemiol.* 2005;161:81-8. <https://doi.org/10.1093/aje/kwi017>
44. Jones K, Subramanian S. Developing multilevel models for analysing contextuality, heterogeneity and change. Volume 1. Boston MA: University of Bristol; 2013.
45. Mickey RM, Greenland S. The impact of confounder selection criteria on effect estimation. *Am J Epidemiol.* 1989;129:125-37. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115101>
46. Maldonado G, Greenland S. Simulation study of confounder-selection strategies. *Am J Epidemiol.* 1993;138:923-36. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116813>
47. Spiegelhalter DJ, Best NG, Carlin BP, Van Der Linde A. Bayesian measures of model complexity and fit. *J R Stat Soc Ser B Stat Methodol.* 2002;64:583-639.
48. Leckie G, Charlton C. runmlwin : A Program to Run the MLwiN Multilevel Modeling Software from within Stata. *J Stat Softw.* 2015;52:1-40.
49. Draper D. Bayesian Multilevel Analysis and MCMC. In: Leeuw J., Meijer E, editors. *Handbook of Multilevel Analysis.* New York, NY: Springer; 2008.
50. Rasbash J, Steele F, Browne WJ, Goldstein H, Charlton CMJ. *A User 's Guide to MLwiN, v2.26.* Centre for Multilevel Modelling. Bristol: University of Bristol; 2012.
51. Tay JB, Kelleher CC, Hope A, Barry M, Gabhainn SN, Sixsmith J. Influence of sociodemographic and neighbourhood factors on self-rated health and quality of life in rural communities: Findings from the agriproject in the Republic of Ireland. *J Epidemiol Community Health.* 2004;58:904-11. <https://doi.org/10.1136/jech.2002.006643>
52. Stafford M, Cummins S, Macintyre S, Ellaway A, Marmot M. Gender differences in the associations between health and neighbourhood environment. *Soc Sci Med.* 2005;60:1681-92. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2004.08.028>

Artículo original

## Expresión de alfa sinucleína en sangre y su relación con el estreñimiento crónico en población residente en Bogotá, D.C., con problemas de consumo de alcohol

Tania Yadira Martínez-Rodríguez<sup>1</sup>, Mauricio Rey-Buitrago<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Maestría en Fisiología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

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

**Introducción.** El consumo excesivo de alcohol resulta en neuroadaptación, neurodegeneración y expresión diferencial de numerosos genes.

**Objetivo.** Determinar la relación entre la expresión del gen de la alfa sinucleína (*SNCA*) en sangre, las variantes de nucleótido único (*Single Nucleotide Variant*, SNV) en su región promotora y el estreñimiento crónico en personas con problemas de consumo de alcohol.

**Materiales y métodos.** La muestra estuvo conformada por 35 controles y 27 casos, seleccionados según el puntaje obtenido con la herramienta AUDIT. En el diagnóstico del estreñimiento se aplicaron los criterios de Roma IV. La extracción de ácidos nucleicos se hizo a partir de sangre periférica y se evaluó la expresión del gen mediante qPCR, la cuantificación proteica por ELISA y la presencia de SNV en la región promotora del gen por la secuenciación de Sanger.

**Resultados.** Se observó sobreexpresión génica relativa de ARNm del gen *SNCA* en el grupo de casos sin relación con el estreñimiento crónico. Se evidenció un riesgo 4,8 veces mayor de presentar estreñimiento en el grupo de casos. Se encontraron nueve variantes de nucleótido simple en un segmento de la región promotora del gen rica en secuencias reguladoras CpG, con frecuencia similar entre los grupos, y se detectó una variante en la posición -2171 que no se encuentra reportada en GenBank para variantes clínicas y cuyo genotipo A/T se relacionó con el incremento de la expresión del ARNm del *SNCA*.

**Conclusión.** En personas con problemas de consumo de alcohol se evidenció la sobreexpresión del ARNm de alfa sinucleína, lo cual no se relacionó con el diagnóstico de estreñimiento crónico.

**Palabras clave:** alcoholismo; estreñimiento; alfa-sinucleína; expresión génica; polimorfismo genético; inflamación.

### Alpha synuclein expression in blood and its relationship with chronic constipation in a population from Bogotá, D.C., with problems of alcohol consumption

**Introduction:** Excessive alcohol consumption results in neuroadaptation, neurodegeneration, and differential expression of numerous genes.

**Objective:** To determine the relationship between the expression of the alpha synuclein gene (*SNCA*) in blood, single nucleotide variant (SNV) in its promoter region, and chronic constipation in people with problems of alcohol consumption.

**Materials and methods:** The sample consisted of 35 controls and 27 cases selected according to the score obtained with the AUDIT tool. For the diagnosis of constipation, the Rome IV criteria were applied. Nucleic acid extraction was performed from peripheral blood and the expression of the gene was evaluated by qPCR, protein quantification by ELISA, and the presence of SNV in the promoter region of the gene by Sanger sequencing.

**Results:** We observed a relative gene overexpression of *SNCA* mRNA in the case group, which was not related to the diagnosis of chronic constipation. There was 4.8 times greater risk of presenting constipation in the group of cases. Besides, nine single nucleotide variants were found in a segment of the promoter region of the gene rich in CpG regulatory sequences with similar frequency between the groups while a variant was identified in position -2171, which is not reported in GenBank for variants and whose genotype A/T was associated with increased expression of *SNCA* mRNA.

**Conclusion:** We evidenced an overexpression of alpha synuclein mRNA in people with problems of alcohol consumption that was not related to the diagnosis of chronic constipation.

**Keywords:** Alcoholism; constipation; alpha synuclein; gene expression; genetic polymorphism; inflammation.

**Recibido:** 15/11/2018

**Aceptado:** 12/09/2019

**Publicado:** 13/09/2019

**Citación:**

Martínez-Rodríguez TY, Rey-Buitrago M. Expresión de alfa sinucleína en sangre y su relación con el estreñimiento crónico en población residente en Bogotá, D.C. con problemas de consumo de alcohol. *Biomédica*. 2020;40:309-21.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.4771>

**Correspondencia:**

Mauricio Rey-Buitrago, Instituto de Genética, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 45 No 26-85, edificio 426, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (571) 316 5000, extensión 11610  
mrey@unal.edu.co

**Contribución de los autores:**

Ambos autores participaron en todas las etapas de la investigación.

**Financiación:**

Esta publicación es producto de los compromisos adquiridos en la convocatoria interna de proyectos para el fortalecimiento de la investigación, creación e innovación de la Universidad Nacional de Colombia, 2016-2018, con el proyecto titulado: "Estudio de genes de neuroinflamación, su expresión y estado de metilación en sujetos alcohol-dependientes colombianos"; código Hermes 34776.

**Conflicto de intereses:**

Los autores declaramos no tener conflictos de intereses.

A nivel mundial se estima que anualmente el abuso del alcohol causa más de dos millones de muertes y diferentes enfermedades agudas y crónicas, incrementando los costos de la atención en salud y comprometiendo el desarrollo del individuo, la familia y la comunidad (1). En Colombia cerca de dos millones y medio de personas consumen alcohol en niveles perjudiciales, lo que representa el 31 % de los consumidores de alcohol y el 11 % de la población entre los 12 y los 65 años (2).

El alto consumo de alcohol causa neurotoxicidad y neuroadaptación (3-7). Se ha postulado que la proteína alfa sinucleína (SNCA) está implicada en la sinapsis, la plasticidad neuronal y diversas funciones en las neuronas dopaminérgicas, lo cual la vincula con el sistema de recompensa cerebral que se ve alterado en las adicciones, especialmente el alcoholismo (3). Además, se ha demostrado que el flujo de SNCA adopta la dirección cerebro-sangre como mecanismo regulador (8), lo que permite su detección en los fluidos humanos (9-16). En este sentido, los estudios en este campo reportan la expresión diferencial del gen que codifica para dicha proteína asociada con la búsqueda y el deseo compulsivo de alcohol (*craving*) (17); asimismo, en los estudios en ratas y primates no humanos se ha evidenciado que la sobreexpresión de alfa sinucleína en sangre resulta del consumo prolongado de alcohol (18,19), lo que ha permitido concluir que la elevación de los niveles de ARNm en sangre es común en humanos, roedores y primates y que la alfa sinucleína podría ser útil como biomarcador periférico de alcoholismo crónico (17-19).

Por otro lado, el gen SNCA es muy polimorfo, incluida la región promotora participante en el proceso de inicio y regulación de la transcripción; algunas de estas variantes se han relacionado con el alto consumo de alcohol. El polimorfismo Rep1 en la SNCA se asocia con fenotipos de uso, abuso, dependencia y búsqueda de alcohol (20); también se han identificado cinco SNV en esta región promotora del gen: rs7678651(C>A), rs7687945 (C>A,T), rs2736995 (A>C), rs2619364 (A>C,G), y rs2301134 (A>G), asociados con el fenotipo del deseo compulsivo (*craving*) de alcohol (21).

Considerando la influencia de la SNCA en la actividad de la dopamina y las funciones de este neurotransmisor en la motilidad, se han establecido hipótesis sobre una posible relación entre el intestino y el cerebro que postulan que la acumulación de alfa sinucleína se inicia en el intestino y se propaga a través del sistema nervioso entérico hasta el sistema nervioso central (22,23), observándose la disminución de la motilidad intestinal y la aparición de estreñimiento en los modelos animales (24-30).

En este sentido, asumiendo una respuesta similar en humanos y dado el común denominador de la SNCA con el alcoholismo y el estreñimiento, el objetivo del estudio fue determinar la relación entre la expresión de la alfa sinucleína en sangre, las variantes de nucleótido único (SNV) en la región promotora del gen y el estreñimiento crónico en una muestra de población residente en Bogotá con problemas de consumo de alcohol.

## **Materiales y métodos**

### ***Muestra de estudio***

Se llevó a cabo un estudio exploratorio observacional del tipo de casos y controles con una muestra seleccionada a conveniencia. Participaron inicialmente 306 sujetos residentes en Bogotá convocados por las redes sociales de la Universidad Nacional de Colombia, que respondieron la

encuesta inicial para la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión, así como el cuestionario *Alcohol Use Disorders Identification Test* (AUDIT) después de firmar el debido consentimiento informado.

Según el puntaje del AUDIT, 115 sujetos cumplían con el correspondiente al grupo de control ( $\leq 2$  puntos) o al grupo de casos ( $\geq 16$  puntos), es decir, quienes consumían alcohol en niveles perjudiciales o de dependencia. Estos fueron citados para la segunda fase de toma de las muestras de sangre, a la que asistieron solamente 62 individuos (35 sujetos en el grupo control y 27 en el grupo de casos), que conformaron la muestra final. Se excluyeron aquellos sujetos que consumían fármacos asociados con el estreñimiento, tenían antecedentes de enfermedad hepática o un esquema de tratamiento del alcoholismo o enfermedades psiquiátricas.

### **Diagnóstico de estreñimiento crónico**

Se aplicaron los criterios de Roma IV para el diagnóstico del estreñimiento (31); con el fin de descartar el síndrome de intestino irritable se aplicaron también los criterios de Roma IV para esta enfermedad, naturalmente teniendo en cuenta la información de la historia clínica de los participantes.

### **Toma de muestras**

Los participantes se abstuvieron de consumir alcohol durante 48 horas como mínimo antes de la extracción de sangre periférica por venopunción. La sangre se recolectó en tubos de tapa lila con EDTA y de los 15 ml obtenidos, seis se destinaron para el aislamiento de células mononucleares y nueve para la extracción del ADN. El plasma obtenido mediante el gradiente de densidad se conservó a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  para su empleo en la prueba de ELISA para proteínas.

### **Análisis de la expresión génica de ARNm**

Para analizar la expresión de ARNm se aislaron las células mononucleares mediante el gradiente de densidad con el reactivo Histopaque-1077™ (Sigma-Aldrich), en tanto que la extracción de ARN total se hizo con el estuche de extracción PureLink RNA mini kit™ (Thermo Fischer Scientific) o con el método trizol-cloroformo usando el reactivo RiboZol™. Para la reacción de transcripción inversa se utilizó el estuche High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit™ (Thermo Fischer Scientific) con las siguientes condiciones: 1) a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos; 2) a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 120 minutos; 3) a  $85\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 5 minutos, y 4) a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  ∞.

Por último, la expresión de los genes se evaluó mediante qPCR utilizando una concentración de  $1\text{ ng}/\mu\text{l}$  para todas las muestras de ADNc dentro del rango dinámico estandarizado, con una eficiencia de amplificación del *SNCA* de 2,18, y los iniciadores de diseño propio F: GCCAAGGAGGGAGTTGTGGCTGC y R: TGTTGCCACACCATGCACCACTCC, en una concentración de  $0,125\text{ }\mu\text{M}$ , mediante la herramienta *primer-blast* disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>.

Para el caso del gen normalizador gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (*GADPH*), se obtuvo una eficiencia de 1,98 y se utilizaron los iniciadores estándar F: CACCAGGGCTGCTTTAACTCTGGTA y R: CCTTGACGGTGCCATGGAATTTGC en una concentración de  $0,25\text{ }\mu\text{M}$ . Además, se utilizó una muestra calibradora interplaca obtenida de una mezcla de iguales proporciones de ADNc del grupo de casos y del de controles. Para la reacción se usó el estuche Kit Luna Universal qPCR Master Mix™; cada

muestra se procesó por triplicado (técnico) bajo las siguientes condiciones: 1) un ciclo de desnaturalización inicial a 95 °C durante 300 segundos; 2) 45 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 15 segundos y una amplificación a 65 °C durante 30 segundos; 3) un ciclo de fusión a 95 °C durante 10 segundos, a 65 °C durante 60 segundos y a 97 °C durante 1 segundo; 4) un ciclo de enfriamiento a 37 °C. Por último, con los niveles de eficiencia de cada gen y los valores de Cq obtenidos se hizo la conversión a la tasa de expresión.

### **Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)**

Para la cuantificación de proteínas se utilizó el estuche Alpha-synuclein (SNCA) (Human) ELISA™ de BioVision Incorporated, con una sensibilidad de <9,375 pg/ml y un rango de detección entre 15,6-1.000 pg/ml. La lectura se hizo a 450 nm con una ventana de tiempo de 20 minutos en un equipo Multiskan FC™ de Thermo Scientific. Cada muestra se procesó por triplicado y la curva estándar se preparó con una serie de 8 diluciones de 300 µl y concentraciones de 1.000, 500, 250, 125, 62,5, 32,1 y 15,6 pg/ml.

### **Evaluación de variantes de nucleótido único**

La extracción de ADN se hizo mediante la técnica de precipitación salina (*salting out*). Para la identificación de las SNV de la región promotora del SNCA se empleó PCR convencional con los iniciadores de diseño propio empleando la herramienta *primer-blast* disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>. La secuencia de los iniciadores fue la siguiente:

F: CCGCTTGTTTTAGACGGCTG y R: GTCACGAGCACTCTTGTGGA, para un segmento de 561 pb comprendido entre los nucleótidos -1738 y -2299 de la región promotora del gen.

Después de la PCR, se purificaron los productos con acetato de sodio 3M y etanol absoluto para luego hacer la secuenciación con el método de Sanger empleando el iniciador directo, por lo que se obtuvo la secuencia de la hebra no codificante. Los electroferogramas se visualizaron con el programa BioEdit Sequence Alignment Editor disponible en <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>, y el alineamiento de las secuencias obtenidas con la secuencia de referencia se hizo con la herramienta BLAST2 disponible en <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

### **Análisis de datos**

El análisis estadístico se hizo con los programas SPSS™ (SPSS Inc., Released 2009, PASW Statistics for Windows, version 18.0; Chicago: SPSS Inc.) y GraphPad Prism™ (GraphPad Software, Inc). Para determinar la distribución de datos se utilizaron las pruebas de Shapiro Wilk y de Kolmogorov-Smirnov. El nivel de significación se estableció en  $\alpha=0,05$  y todas las pruebas se realizaron a dos colas. Se emplearon, asimismo, las pruebas de Mann-Whitney, ANOVA de dos factores con test *post hoc* de Bonferroni, de Friedman y el test exacto de Fisher y el de ji al cuadrado.

### **Consideraciones éticas**

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia mediante acta de evaluación 014-224B-17 del 28 de septiembre de 2017. Todos los sujetos aceptaron participar voluntariamente en el estudio y firmaron un consentimiento informado.

## Resultados

### Descripción de los sujetos de estudio

La media de la edad de los participantes fue de  $24 \pm 4$  años para el grupo de control y de  $23 \pm 4$  años para el grupo de los casos. El porcentaje de mujeres fue de 46,8 %. El universo incluyó a personal vinculado a la Universidad Nacional de Colombia y mayoritariamente a estudiantes universitarios.

Tomando como referencia las unidades de bebida estándar y el volumen de un trago por bebida, en un día habitual de consumo de alcohol los hombres del grupo de casos consumían en promedio 192 g y las mujeres 244 g, en tanto que los hombres del grupo de control consumían en promedio 23 g y las mujeres, 37 g.

### Expresión del ARNm del SNCA en células mononucleares de sangre

Debido a algunas limitaciones técnicas, en este ensayo se analizó una muestra de 25 sujetos del grupo control y 25 del grupo de casos. La tasa de expresión se obtuvo mediante los valores de Cq y se evidenció un incremento en la expresión del ARNm del SNCA en el grupo de casos estadísticamente significativo comparado con el grupo de control ( $p=0,0099$ ) (figura 1).

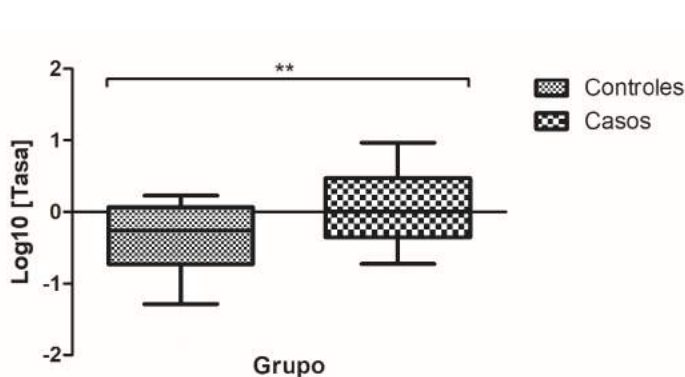
La expresión génica por sexos presentó una media de 0,465 en las mujeres del grupo de control y de 1.208 en las del grupo de los casos; en los hombres del grupo de control fue de 0,378 y de 1.346 en los del grupo de los casos.

### Cuantificación de la proteína SNCA en plasma

Se empleó el plasma de 34 sujetos del grupo control y de 27 del grupo de casos. El valor promedio en los niveles de la proteína en plasma fue mayor en el grupo de casos (199,3 pg/ml) que en el de controles (180,9 pg/ml), sin diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p=0,7112$ ) (figura 2).

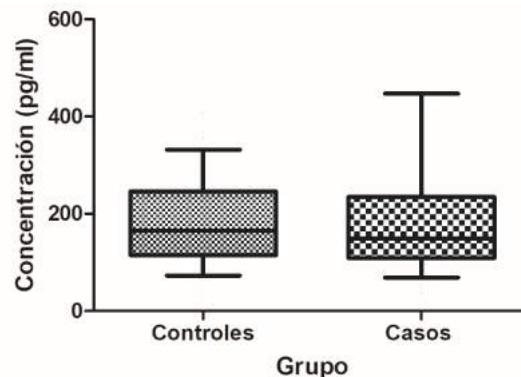
### Frecuencia de SNV en la región promotora del gen SNCA

Se evaluaron 31 sujetos del grupo de control y 25 del grupo de casos. En general, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en ninguna de las nueve variantes estudiadas en el segmento de la región promotora del SNCA.



**Figura 1.** Grado de expresión de ARNm del gen SNCA en células mononucleares de sangre periférica. Los valores se presentan en el diagrama de caja con un rango de percentil de 10 a 90; la línea representa la mediana.

\*\*  $p=0,0099$  en la prueba de Mann-Whitney;  $n=25$  sujetos en cada grupo



**Figura 2.** Concentración de la proteína SNCA en plasma sanguíneo. Los valores se presentan en el diagrama de caja con un rango del percentil de 10 a 90; la línea representa la mediana.

$p=0,7112$  en la prueba de Mann-Whitney;  $n=34$  sujetos en el grupo de control y  $n=27$  en el grupo de casos

La secuenciación de ADN se determinó en la hebra no codificante y, por lo tanto, complementaria de los reportados en las bases de datos. De las variantes previamente reportadas y relacionadas con el consumo de alcohol, se encontró una mayor frecuencia en el genotipo [C/C] para la variante rs2619363 (G>C, T), seguido del genotipo heterocigoto [C/A], sin registrarse diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,77$ ). Para la variante rs2301134 (A>G) las frecuencias se distribuyeron en los tres genotipos [C/C], [C/T] y [T/T] con mayor frecuencia el genotipo heterocigoto [C/T] en los controles, aunque sin diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,11$ ) (cuadro 1).

Asimismo, las seis variantes previamente identificadas en el segmento analizado, rs542037441 (G>T), rs989496677(C>T), rs927159023 (G>C), rs924048579 (G>C), rs950036657 (G>A), y rs916862395 (G>C,T), resultaron ser monomorfas del tipo homocigoto, [G/G], [C/C], [C/C], [C/C], [G/G] y [C/C], respectivamente, en los dos grupos evaluados y en el 100 % de los participantes en el estudio.

Por otro lado, en el estudio se detectó con gran frecuencia en los dos grupos una SNV en la posición -2171 de la región promotora del gen *SNCA*, la cual no se encuentra reportada en GenBank (NCBI). Dicha variante se observó con mayor frecuencia en el genotipo heterocigoto [T/A] en los dos grupos, sin diferencia estadísticamente significativa entre ellos ( $p=0,14$ ).

**Cuadro 1.** Frecuencia de genotipos y alelos de diferentes SNV de la región promotora del gen *SNCA* (-1738 y -2299) secuenciados en la hebra no codificante

SNV	n	Genotipo % (n)			Alelos % (n)	
		C/C	C/A	A/A	C	A
rs2619363 (-2229)		C/C	C/A	A/A	C	A
Controles	27	63 (17)	33,3 (9)	3,7 (1)	80 (44)	20 (11)
Casos	24	62,5 (15)	29,2 (7)	8,3 (2)	77,1 (37)	22,9 (11)
p<0,05			0,77			0,72
rs542037441 (-2195)		C/C	C/A	A/A	C	A
Controles	31	100 (31)	0	0	100 (62)	0
Casos	25	100 (25)	0	0	100 (50)	0
p<0,05			>0,99			>0,99
rs989496677 (-2185)		G/G	G/A	A/A	G	A
Controles	31	100 (31)	0	0	100 (62)	0
Casos	25	100 (25)	0	0	100 (50)	0
p<0,05			>0,99			>0,99
SNV (-2171)		T/T	T/A	A/A	T	A
Controles	31	16,1 (5)	83,9 (26)	0	58,1 (36)	41,9 (26)
Casos	25	4,4 (1)	96,0 (24)	0	52 (26)	48 (24)
p<0,05			0,14			0,52
rs927159023 (-2159)		C/C	C/G	G/G	C	G
Controles	31	100 (31)	0	0	100 (62)	0
Casos	25	100 (25)	0	0	100 (50)	0
p<0,05			>0,99			>0,99
rs924048519 (-2141)		C/C	C/G	G/G	C	G
Controles	31	100 (31)	0	0	100 (62)	0
Casos	25	100 (25)	0	0	100 (50)	0
p<0,05			>0,99			>0,99
rs2301134 (-2127)		C/C	C/T	T/T	C	T
Controles	31	19,4 (6)	67,7 (21)	12,9 (4)	53,2 (33)	46,8 (29)
Casos	25	32 (8)	40 (10)	28 (7)	52 (26)	28 (24)
p<0,05			0,11			0,90
rs950036657 (-2120)		C/C	C/T	T/T	C	T
Controles	31	100 (31)	0	0	100 (62)	0
Casos	25	100 (25)	0	0	100 (50)	0
p<0,05			>0,99			>0,99
rs916862395 (-2111)		C/C	C/G	G/G	C	G
Controles	31	100 (31)	0	0	100 (62)	0
Casos	25	100 (25)	0	0	100 (50)	0
p<0,05			>0,99			>0,99



### Presencia de estreñimiento crónico en la población seleccionada

Con base en el algoritmo para el diagnóstico del estreñimiento crónico, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la presencia de estreñimiento crónico por grupos de consumo de alcohol ( $p=0,011$ ), observándose un riesgo 4,8 veces mayor de presentar estreñimiento en las personas con problemas de consumo de alcohol ( $OR=4,8$ ; IC: 1,43-16,2) (figura 3). Se aplicaron los criterios diagnósticos de Roma IV para el síndrome de intestino irritable con el fin de descartar alguna relación entre la presencia de síntomas típicos del estreñimiento crónico y los del síndrome.

### Asociación entre el nivel de proteína SNCA y la prevalencia de estreñimiento crónico

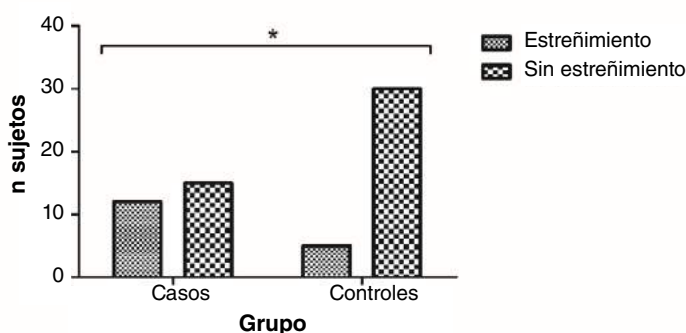
Se evaluaron 34 sujetos en el grupo de control y 27 en el grupo de casos. En general, no se observó una relación entre el diagnóstico de estreñimiento crónico y el consumo de alcohol como factores separados, ni en su interacción sobre el nivel de proteína SNCA ( $p=0,982$ ).

### Asociación entre la expresión del gen SNCA en forma de ARNm y la prevalencia de estreñimiento crónico

Se analizaron 25 sujetos en cada grupo de estudio. Se observó un incremento de la expresión del SNCA en los sujetos con elevado consumo de alcohol y diagnóstico de estreñimiento crónico (figura 4); no obstante, no se encontró una diferencia estadística significativa para esta interacción (cuadro 2).

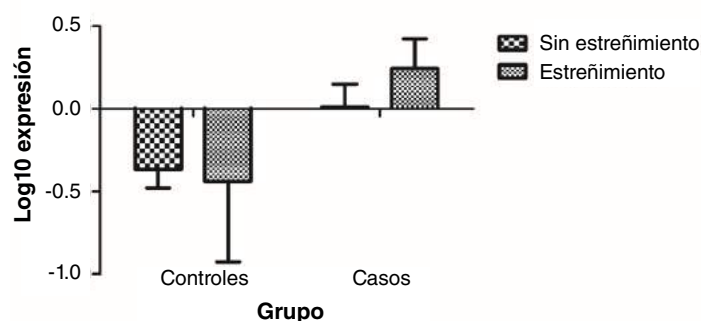
### Relación entre la expresión del gen SNCA y los SNV

Se analizaron tres variantes del total de nueve, ya que seis fueron monomorfas en la población estudiada. Según la prueba *post hoc* de Bonferroni, la SNV en la posición -2171 registró una diferencia estadísticamente significativa en la expresión del SNCA entre los grupos de casos y controles en los sujetos con el genotipo AT ( $p<0,01$ ) (figura 5).



**Figura 3.** Presencia de estreñimiento crónico en los sujetos de investigación. Los valores corresponden a la frecuencia.

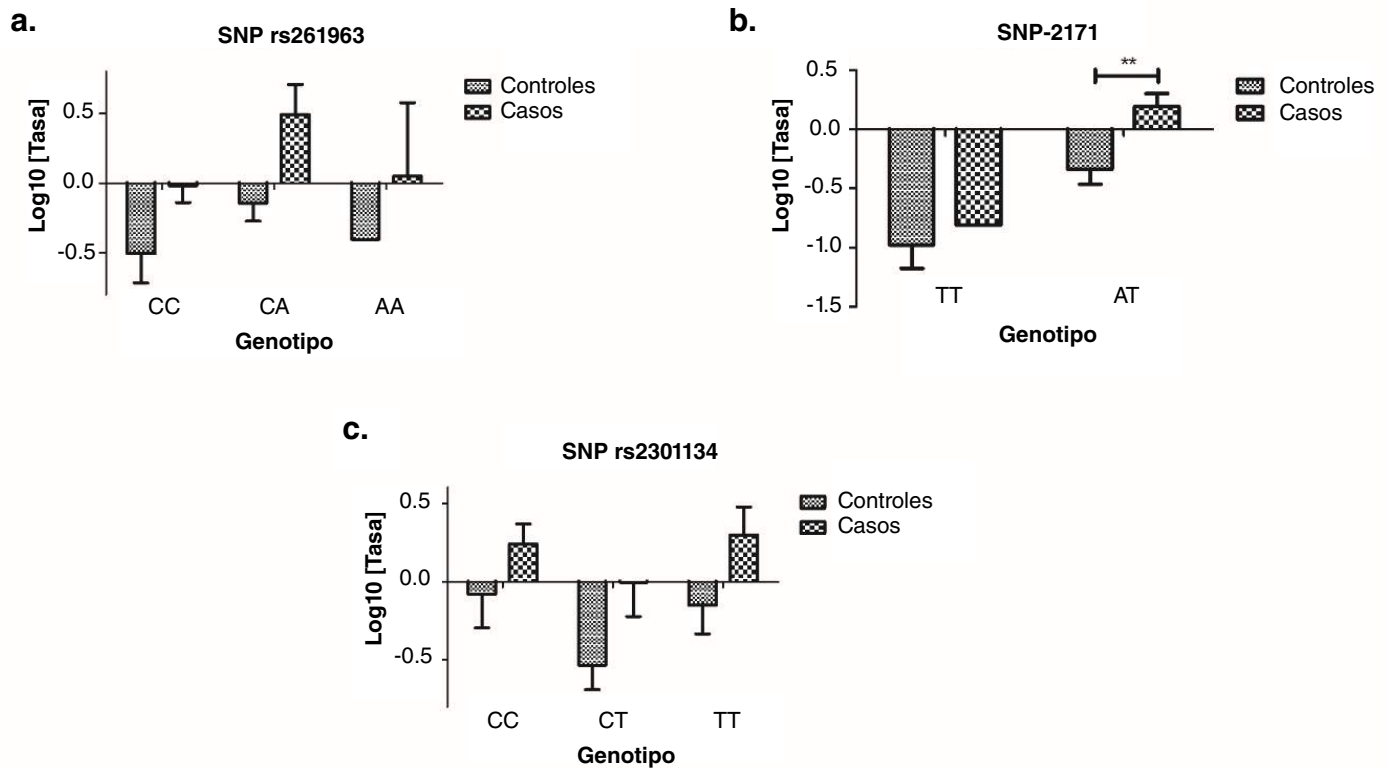
\*  $p=0,011$  en la prueba exacta de Fisher;  $OR=4,8$ , (IC95% 1,43-16,2); grupo de controles:  $n=5$  con estreñimiento y  $n=30$  sin estreñimiento. Grupo de casos:  $n=12$  con estreñimiento y  $n=15$  sin estreñimiento



**Figura 4.** Expresión del gen SNCA según el diagnóstico de estreñimiento crónico. Los valores corresponden a la media.  $p=0,460$ , en la prueba de ANOVA de dos factores. Grupo de controles:  $n=3$  con estreñimiento y  $n=22$  sin estreñimiento. Grupo de casos:  $n=11$  con estreñimiento y  $n=14$  sin estreñimiento

**Cuadro 2.** Expresión ( $\log_{10}$ ) del gen SNCA según el diagnóstico de estreñimiento crónico

	Controles	Casos	Diferencia	Intervalo de confianza	p
Con estreñimiento	-0,4396	0,2463	0,6859	-0,1663–1,538	>0,05
Sin estreñimiento	-0,3667	0,01003	0,3767	-0,07064–0,8241	>0,05



**Figura 5.** Tasa de expresión del *SNCA* según el genotipo de tres SNV. Los valores corresponden a la media con su respectiva desviación estándar. a. Tasa de expresión según el genotipo del SNV rs261963,  $p=0,920$ . b. Tasa de expresión según el genotipo del SNV -2171,  $p=0,581$  en la prueba post hoc y  $** p<0,01$  para el genotipo AT en los dos grupos. c. Tasa de expresión según el genotipo del SNV rs2301134,  $p=0,875$ .  $n=34$  sujetos en el grupo de control y  $n=27$  en el grupo de casos

## Discusión

En el estudio se utilizó la herramienta AUDIT validada internacionalmente por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (32) y, en Colombia, por Campo, *et al.* (33), y por Ospina, *et al.* (34). Según la OMS, los criterios de AUDIT establecen que el consumo perjudicial corresponde a 40 g diarios en mujeres y más de 60 g diarios en hombres, en tanto que el consumo de dependencia es de más de 60 g en cualquiera de los sexos (35). Al comparar estos criterios con lo reportado en un día habitual de consumo por los participantes en el estudio, se observó en el grupo de casos un consumo muy superior al establecido.

La expresión de ARNm del gen *SNCA* en células mononucleares de sangre periférica fue significativamente mayor en el grupo de casos ( $p=0,0099$ ), lo que coincide con lo reportado por Walker, *et al.* (19), en su evaluación de la expresión de ARNm del gen *SNCA* mediante microarreglos en primates alcohólicos que consumieron alcohol libremente durante 18 meses, lo que resultó en un incremento 3,21 veces mayor de los niveles de ARNm en sangre periférica en comparación con los controles ( $p<0,0001$ ) (19).

Es importante tener en cuenta que, en el presente estudio, los sujetos del grupo de casos se abstuvieron de consumir durante las 48 horas previas a la extracción de sangre, a diferencia de los primates no humanos del estudio mencionado, que dispusieron de alcohol hasta el último momento para medir así el efecto crónico y el agudo. Por ello, es posible que, en este caso en particular y bajo las mismas condiciones, el nivel de expresión en humanos se hubiera incrementado.

En otros estudios con humanos, se ha evaluado la expresión génica del *SNCA* en sangre con un periodo de abstinencia de 24 a 72 horas y se ha registrado un aumento significativo de la expresión en el grupo de las personas con alcoholismo ( $p=0,021$ ) (17) y, aunque el estudio de Bönsch, *et al.* (36), se hizo únicamente en hombres y en el presente en el grupo de casos había 17 hombres y ocho mujeres, se observó un aumento de la expresión de 1,1 veces en los hombres comparados con las mujeres.

Por otro lado, aunque la concentración de la proteína en plasma aumentó en el grupo de casos (199,3 pg/ml) con respecto al de control (180,9 pg/ml), las diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p=0,07112$ ), lo que contrasta con lo evidenciado por Bönsch, *et al.*, quienes reportaron un aumento significativo de la proteína en personas con abstinencia de 24 a 72 horas (14,33 ng/ml), comparadas con los controles sanos (5,92 ng/ml) ( $p<0,0001$ ) (36).

En el presente estudio, el incremento en la concentración de la proteína no fue estadísticamente significativo comparado con los niveles de expresión del ARNm del *SNCA* por varias razones: en primer lugar, las determinaciones se realizaron en compartimentos diferentes, el ARNm en lisados de células mononucleares de sangre periférica y la proteína en plasma, por lo que no necesariamente tendrían que ser concordantes, como se ha demostrado en diferentes tejidos y regiones cerebrales (4,8,9). En segundo lugar, las diferencias podrían deberse a mecanismos de regulación postranscripcionales que impiden la traducción eficaz del ARNm (37,38); tan es así que los cambios postranscripcionales del ARNm del *SNCA* están regulados por la presencia de varios microARN, especialmente el mir-7 y el mir-153, que se unen a la región 3'-UTR del *SNCA* y cuya expresión es inversamente proporcional a la expresión del ARNm y la proteína (39,40).

En cuanto a las nueve variantes identificadas de nucleótido único, los hallazgos previos han informado de una asociación entre la presencia de la variante rs2619363 y el fenotipo de deseo compulsivo de alcohol (*craving*) ( $p=0,01$ ); sin embargo, en el presente estudio no se observó dicha diferencia ( $p=0,77$ ). En cuanto a la variante rs2301134, aquí no se encontraron diferencias entre las personas en abstinencia durante 48 horas como mínimo y los sujetos de control ( $p=0,11$ ), al igual que se registró en el estudio de Foroud, *et al.*, quienes no encontraron relación entre este SNV y el fenotipo de deseo compulsivo de alcohol ( $p=0,69$ ) tan estrechamente vinculado con la dependencia (21), el cual se da en periodos de abstinencia. Las variantes monomorfas identificadas en la presente muestra tuvieron una frecuencia similar a la reportada mundialmente, sin evidencia de una posible vinculación con el consumo de alcohol.

Por otro lado, en el presente estudio se identificó una SNV en la posición -2171 del promotor del gen *SNCA* con una mayor frecuencia del genotipo heterocigoto [A/T] en los dos grupos evaluados. Esta SNV no se encuentra reportada en GenBank (NCBI) como variante, por lo que su análisis puede ser de utilidad para futuras investigaciones. Esta variante de SNV en -2171 presentó una diferencia significativa para el genotipo heterocigoto [A/T], observándose un incremento de la expresión génica de ARNm en el grupo de los casos ( $p<0,01$ ). No se encontraron estudios previos que evaluaran la relación entre la expresión del gen y las SNV mencionadas en el promotor. Es importante recordar que el promotor es la región del gen donde se ensambla la maquinaria de la transcripción y que los cambios en los nucleótidos pueden aumentar o disminuir la afinidad por los factores proteicos

participantes y, por lo tanto, afectar la tasa de transcripción. En este caso, la SNV -2171 [A/T] podría estar relacionada con ese aumento en la expresión de SNCA en el grupo de casos.

Por otro lado, la presencia de estreñimiento se asoció con un riesgo 4,8 veces mayor en sujetos con problemas de consumo de alcohol ( $p=0,011$ ); sin embargo, no se evidenció relación con la sobreexpresión de SNCA. Debe tenerse en cuenta que los estudios previos se hicieron en un modelo animal con modificación genética para sobreexpresar ARNm e incrementar los niveles proteicos de SNCA (24-30). En dichos modelos animales, se ha observado una reducción en el número de bolas fecales, un aumento de 2,2 veces en el tiempo de expulsión, un contenido fecal 2,9 veces mayor y una alteración de los estímulos para la defecación correspondiente al estreñimiento (27,28,41,42), que posiblemente se relacionen con lo postulado por Sharma, *et al.*, en el sentido de que la presencia del estreñimiento se explicaría por la disbiosis que afecta el epitelio del colon, lo que permite que los agregados de SNCA puedan infiltrarse a través del sistema nervioso entérico hasta llegar al sistema nervioso central (43).

En el presente estudio observacional, se evidenció una diferencia en la expresión del ARNm del SNCA mas no en la proteína, que por su acumulación y agregación causa los efectos motores y no motores (entre ellos el estreñimiento) ya descritos para las llamadas alfa sinucleopatías. Por las tasas de transcripción observadas es poco probable que existan agregados de SNCA (se requieren grandes concentraciones) que puedan infiltrarse en el epitelio intestinal y causar síntomas relacionados con el estreñimiento.

Hasta donde se sabe, este es el primer estudio en el que se intenta evidenciar esta relación, por lo que se requeriría más investigación *in vivo* e *in vitro* de tipo observacional y de intervención, con diseños experimentales orientados a determinarla.

El consumo crónico de alcohol tiene manifestaciones psiquiátricas, psicológicas y biológicas similares a otras enfermedades neurodegenerativas. En este contexto, los resultados del presente estudio no concuerdan con lo observado en los pacientes con enfermedad de Parkinson, en la que también se presentan niveles incrementados de la SNCA y el estreñimiento es frecuente, generalmente antes de que se manifiesten los síntomas clínicos propios de la enfermedad, por lo que se ha asociado la frecuencia de evacuaciones intestinales con el riesgo futuro de padecerla; se ha encontrado que aquellas personas con menos de una evacuación por día presentan un riesgo de 2,7 a 4,5 veces mayor (44) y que quienes presentan estreñimiento como antecedente tienen un estadio más grave de la enfermedad (45). Sin embargo, aunque tanto en la enfermedad de Parkinson como en el alcoholismo, hay incremento de SNCA y daños cerebrales, es posible que la presencia de estreñimiento en la enfermedad de Parkinson se deba a otros factores diferentes a los del alcoholismo aún no determinados y que no se relacionen con cambios en la permeabilidad del intestino y en la biota intestinal por acción del alcohol, como se ha empezado a esclarecer (46), y se relacionan más con otras alteraciones en las vías dopaminérgicas que tienen un papel importante en la motilidad intestinal.

En este estudio, se evidenció la sobreexpresión de ARNm del gen SNCA en las células mononucleares de los sujetos con problemas de consumo de alcohol, pero no se encontró una relación con la concentración plasmática de la proteína. Además, en el grupo con alto consumo de alcohol, se registró un

mayor riesgo de presentar estreñimiento, aunque sin relación con la expresión diferencial de ARNm del *SNCA*. Por otro lado, no se observó una diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de las SNV y se identificó una en la posición -2171, no reportada previamente como variante en GenBank, y cuyo genotipo [A/T] parece contribuir al incremento de la expresión génica de *SNCA*.

### Agradecimientos

A los participantes voluntarios del estudio, a los estudiantes de pregrado y posgrado del Semillero de Investigación, subgrupo de Genética de las Adicciones, Grupo de Genética Clínica, y a todo el personal del Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia que de una u otra forma han contribuido al desarrollo de este trabajo.

### Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Estrategia mundial para reducir el uso nocivo del alcohol. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2010. p. 1-46. Fecha de consulta: 5 de enero de 2018. Disponible en: [https://www.who.int/substance\\_abuse/activities/msbabcstrategies.pdf](https://www.who.int/substance_abuse/activities/msbabcstrategies.pdf)
2. Observatorio de Drogas de Colombia. Estudio de consumo de sustancias psicoactivas en Colombia, 2013. p. 1-182. Fecha de consulta: 5 de enero de 2018. Disponible en: [https://www.unodc.org/documents/colombia/2014/Julio/Estudio\\_de\\_Consumo\\_UNODC.pdf](https://www.unodc.org/documents/colombia/2014/Julio/Estudio_de_Consumo_UNODC.pdf)
3. Serecigni J. Neurobiología del alcoholismo. *Psicología desde el Caribe*. 2013;30:21-35.
4. Janeczek P, Lewohl J. The role of  $\alpha$ -synuclein in the pathophysiology of alcoholism. *Neurochem Int*. 2013;63:154-62. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.06.007>
5. Swant J, Goodwin J, North A, Ali A, Gamble J, Chirwa S, *et al*.  $\alpha$ -synuclein stimulates a dopamine transporter-dependent chloride current and modulates the activity of the transporter. *J Biol Chem*. 2011;286:43933-43. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.241232>
6. Liang T, Carr LG. Regulation of alpha-synuclein expression in alcohol-preferring and -non preferring rats. *J Neurochem*. 2006;99:470-82. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04111.x>
7. Butler B, Saha K, Rana T, Becker JP, Sambo D, Davari P, *et al*. Dopamine transporter activity is modulated by  $\alpha$ -synuclein. *J Biol Chem*. 2015;290:29542-54. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.691592>
8. Sui Y, Bullock K, Erickson M, Zhang J, Banks W. Alpha synuclein is transported into and out of the brain by the blood-brain barrier. *Peptides*. 2014;62:197-202. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.09.018>
9. Lööv C, Scherzer CR, Hyman BT, Breakefield XO, Ingelsson M.  $\alpha$ -synuclein in extracellular vesicles: Functional implications and diagnostic opportunities. *Cell Mol Neurobiol*. 2016;36:437-48. <https://doi.org/10.1007/s10571-015-0317-0>
10. Simonsen A, Kuiperij B, El-Agnaf A, Omar M, Engelborghs S, Herukka S-K, *et al*. The utility of  $\alpha$ -synuclein as biofluid marker in neurodegenerative diseases: A systematic review of the literature. *Biomark Med*. 2016;10:19-34. <https://doi.org/10.2217/BMM.14.105>
11. Omar M, Agnaf E, Salem S, Paleologou K, Cooper L, Fullwood N, *et al*. Synuclein implicated in Parkinson's disease is present in extracellular biological fluids including human plasma. *FASEB J*. 2003;17:1945-7. <https://doi.org/10.1096/fj.03-0098fje>
12. Henchcliffe C. Blood and cerebrospinal fluid markers in Parkinson's disease: Current biomarker findings. *Curr Biomark Find*. 2015;5:1-11. <https://doi.org/10.2147/CBF.S50424>
13. Nakai M, Fujita M, Waragai M, Sugama S, Wei J, Akatsu H, *et al*. Expression of  $\alpha$ -synuclein, a presynaptic protein implicated in Parkinson's disease, in erythropoietic lineage. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;358:104-10. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.04.108>
14. Abd-Elhadi S, Honig A, Simhi-Haham D, Schechter M, Linetsky E, Ben-Hur T, *et al*. Total and proteinase K-resistant  $\alpha$ -synuclein levels in erythrocytes, determined by their ability to bind phospholipids, associate with Parkinson's disease. *Sci Rep*. 2015;5:1-12. <https://doi.org/10.1038/srep11120>
15. Kang W, Chen W, Yang Q, Zhang L, Zhang L, Wang X, *et al*. Salivary total  $\alpha$ -synuclein, oligomeric  $\alpha$ -synuclein and *SNCA* variants in Parkinson's disease patients. *Sci Rep*. 2016;6:1-8. <https://doi.org/10.1038/srep28143>

16. Wang X, Yu S, Li F, Feng T. Detection of  $\alpha$ -synuclein oligomers in red blood cells as a potential biomarker of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2015;599:115-9. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.05.030>
17. Binsch D, Reulbach U, Bayerlein K, Hillemecher T, Kornhuber J, Bleich S. Elevated alpha synuclein mRNA levels are associated with craving in patients with alcoholism. *Biol Psychiatry*. 2004;56:984-6. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.09.016>
18. Ziolkowska B, Gieryk A, Wawrzczak-Bargiela A, Krowka T, Kaminska D, Korkosz A, *et al*.  $\alpha$ -Synuclein expression in the brain and blood during abstinence from chronic alcohol drinking in mice. *Neuropharmacology*. 2008;54:1239-46. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.04.001>
19. Walker S, Grant K. Peripheral blood  $\alpha$ -synuclein mRNA levels are elevated in cynomolgus monkeys that chronically self-administer ethanol. *Alcohol*. 2006;38:1-4. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2006.03.008>
20. Bönsch D, Lederer T, Reulbach U, Hothorn T, Kornhuber J, Bleich S. Joint analysis of the NACP-REP1 marker within the alpha synuclein gene concludes association with alcohol dependence. *Hum Mol Genet*. 2005;14:967-71. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi090>
21. Foroud T, Wetherill LF, Liang T, Dick DM, Hesselbrock V, Kramer J, *et al*. Association of alcohol craving with a-synuclein (SNCA). *Alcohol Clin Exp Res*. 2007;31:537-45. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00337.x>
22. Braak H, Rüb U, Gai WP, Del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: Possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm*. 2003;110:517-36. <https://doi.org/10.1007/s00702-002-0808-2>
23. Shannon KM, Keshavarzian A, Dodiya HB, Jakate S, Kordower JH. Is alpha-synuclein in the colon a biomarker for premotor Parkinson's disease? Evidence from 3 cases. *Mov Disord*. 2012;27:716-9. <https://doi.org/10.1002/mds.25020>
24. Chesselet MF, Richter F, Zhu C, Magen I, Watson MB, Subramaniam SR. A progressive mouse model of Parkinson's disease: The Thy1-aSyn ("Line 61") mice. *Neurotherapeutics*. 2012;9:297-314. <https://doi.org/10.1007/s13311-012-0104-2>
25. Rockenstein E, Mallory M, Hashimoto M, Song D, Shults CW, Lang I, *et al*. Differential neuropathological alterations in transgenic mice expressing a-synuclein from the platelet-derived growth factor and Thy-1 promoters. *J Neurosci Res*. 2002;68:568-78. <https://doi.org/10.1002/jnr.10231>
26. Verbaan D, Marinus J, Visser M, Van Rooden SM, Stiggelbout AM, van Hilten JJ. Patient-reported autonomic symptoms in Parkinson disease. *Neurology*. 2007;69:333-41. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000266593.50534.e8>
27. Wang L, Magen I, Yuan PQ, Subramaniam SR, Richter F, Chesselet MF, *et al*. Mice overexpressing wild-type human alpha-synuclein display alterations in colonic myenteric ganglia and defecation. *Neurogastroenterol Motil*. 2012;24:1-12. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2012.01974.x>
28. Sampson TR, Debelius JW, Thron T, Janssen S, Shastri GG, Ilhan ZE, *et al*. Gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease. *Cell*. 2016;167:1469-80.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.018>
29. Engen P, Green S, Voigt R, Forsyth C, Keshavarzian A. The gastrointestinal microbiome: Alcohol effects on the composition of intestinal microbiota. *Alcohol Res*. 2015;37:223-36. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4342.9285>
30. Yan A, Fouts D, Brandl J, Starkel P, Torralba M, Schott E, *et al*. Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease. *Hepatology*. 2011;53:96-105. <https://doi.org/10.1002/hep.24018>
31. Domingo J. The new Rome criteria (IV) of functional digestive disorders in clinical practice. *Med Clin (Barc)*. 2017;148:464-8. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2016.12.020>
32. Babor T, Higgins J, Saunders J, Monteiro M. Cuestionario de identificación de los trastornos debidos al consumo de alcohol. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2001. p. 1-40.
33. Campo A, Villamil M, Herazo E. Confiabilidad y dimensionalidad del AUDIT en estudiantes de medicina. *Psicología desde el Caribe*. 2013;30:21-35.
34. Ospina J, Manrique F, Ariza N. Confiabilidad y dimensionalidad del cuestionario para identificación de trastornos debidos al consumo de alcohol (AUDIT) en estudiantes universitarios de Tunja (Colombia). *Salud Uninorte*. 2012;28:276-82.

35. Anderson P, Gual L, Colón J. Alcohol y atención primaria de la salud alcohol y atención primaria de la salud. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2008.
36. Bönsch D, Greifenberg V, Bayerlein K, Biermann T, Reulbach U, Hillemacher T, *et al.*  $\alpha$ -synuclein protein levels are increased in alcoholic patients and are linked to craving. *Alcohol Clin Exp Res.* 2005;29:763-5. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000164360.43907.24>
37. Sheth U, Parker R. Decapping and decay of messenger RNA occur in cytoplasmic processing bodies. *Science.* 2003;300:805-8. <https://doi.org/10.1126/science.1082320>
38. Parker R, Sheth U. P bodies and the control of mRNA translation and degradation. *Mol Cell.* 2007;25:635-46. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.02.011>
39. Doxakis E. Post-transcriptional regulation of a-synuclein expression by mir-7 and mir-153. *J Biol Chem.* 2010;285:12726-34. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.086827>
40. McMillan K, Murray T, Bengoa N, Cordero O, Cooper J, Buckley A, *et al.* Loss of microRNA-7 regulation leads to  $\alpha$ -synuclein accumulation and dopaminergic neuronal loss in vivo. *Mol Ther.* 2017;25:2404-14. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.08.017>
41. Wang L, Fleming S, Chesselet M, Taché Y. Abnormal colonic motility in mice overexpressing human wild-type  $\alpha$ -synuclein. *Neuroreport.* 2008;19:873-6. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e3282ffda5e>
42. Kuo Y, Li Z, Jiao Y, Gaborit N, Pani A, Morrison B, *et al.* Extensive enteric nervous system abnormalities in mice transgenic for artificial chromosomes containing Parkinson disease-associated alpha-synuclein gene mutations precede central nervous system changes. *Hum Mol Genet.* 2010;19:1633-50. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e3282ffda5e>
43. Sharma A, Kurek J, Morgan JC, Wakade C, Rao SS. Constipation in Parkinson's disease: A nuisance or nuanced answer to the pathophysiological puzzle? *Curr Gastroenterol Rep.* 2018;20:1. <https://doi.org/10.1007/s11894-018-0609-x>
44. Abbott R, Petrovitch H, White L, Masaki K, Tanner C, Curb J, *et al.* Frequency of bowel movements and the future risk of Parkinson's disease. *Neurology.* 2001;57:456-62. <https://doi.org/10.1212/WNL.58.5.838-a>
45. Rodríguez O, Torres L, Meza K, López R, Ruiz H, Cosentino C. Estreñimiento como factor asociado a mayor severidad en pacientes con enfermedad de Parkinson del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas del Perú. *Diagnóstico.* 2019;57:180-3. <https://doi.org/10.33734/diagnostico.v57i4.169>
46. Leclercq S, De Timary P, Delzenne N, Stärkel P. The link between inflammation, bugs, the intestine and the brain in alcohol dependence. *Transl Psychiatry.* 2017;7:e1048. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.15>



Original article

## Transition and factors associated with the level of physical activity combined with sedentary behavior of the elderly: A longitudinal study

Lilane Maria Alves Silva, Darlene Mara dos Santos Tavares, Leiner Resende Rodrigues  
Federal University of Triângulo Mineiro, Postgraduate Program in Health Care, Uberaba, Minas Gerais, Brazil

**Introduction:** Physical activity and sedentary behavior are emerging issues in public health, especially in developing countries.

**Objective:** To verify transition and factors related to physical activity combined with sedentary behavior among the elderly followed for 24 months.

**Materials and methods:** We conducted a longitudinal observational study with people aged 60 years or over living in the urban area of Uberaba, Brazil. We collected the data from sociodemographic, health, and physical tests in 2014 and 2016 using the Mini-Mental State Examination (MMSE), the Katz Index, the Lawton and Brody Scale, the Short Physical Performance Battery (SPPB), and the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). For the combined evaluation we considered a cutoff point of 150 minutes of physical activity per week and the percentile 75 (420 minutes/day) for sedentary behavior constituting the groups: Unsatisfactory (insufficient sum of physical activity and sedentary behavior), intermediate (loss of only one of the two components) and satisfactory (sufficient sum of physical activity and sedentary behavior). The statistical descriptive and inferential analysis was performed using the Statistical Package for Social Sciences™, version 21.0, considering  $p < 0.05$ .

**Results:** Of the 374 elderly, 61 (16.3%) improved their physical activity and sedentary behavior condition, 226 (60.4%) remained in the same category and 87 (23.3%) got worse. Unsatisfactory levels of physical activity and sedentary behavior were related to the eldest group ( $p = 0.031$ ), the absence of professional activity ( $p < 0.001$ ), the dependence for instrumental activities of daily living ( $p = 0.013$ ), and a worse physical performance ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Our results showed a relationship between sociodemographic and health factors with physical activity and sedentary behavior, reiterating the need for further research on the subject.

**Keywords:** Motor activity; sedentary behavior; health of the elderly; risk factors; longitudinal studies; health surveys.

**Received:** 19/06/2019  
**Accepted:** 01/09/2019  
**Published:** 01/10/2019

### Citation:

Alves Silva LM, dos Santos Tavares DM, Resende Rodrigues L. Transition and factors associated with the level of physical activity combined with sedentary behavior of the elderly: A longitudinal study. *Biomédica*. 2020;40:322-35.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.5108>

### Corresponding author:

Lilane Maria Alves Silva, Postgraduate Program in Health Care, Federal University of Triângulo Mineiro, Av. Getúlio Guaritá nº 107 - Bairro Abadia, Uberaba, Minas Gerais, Brasil, CEP: 38025-440  
Telephone: (55) (34) 3700 6606 and (55) (34) 3318 5187  
[lilanealves@yahoo.com.br](mailto:lilanealves@yahoo.com.br)

### Author contributions:

All the authors contributed to the conception and design of the manuscript, as well as the acquisition, analysis, and data interpretation.

### Funding:

Research supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

### Conflicts of interest:

The authors declare no conflicts of interest.

### Evolución y factores asociados con los niveles de actividad física y comportamiento sedentario en ancianos: estudio longitudinal

**Introducción.** La actividad física y el comportamiento sedentario son temas emergentes de salud pública, especialmente en los países en desarrollo.

**Objetivo.** Verificar la transición y los factores relacionados con la actividad física y el comportamiento sedentario entre ancianos durante un seguimiento de 24 meses.

**Materiales y métodos.** Se llevó a cabo un estudio longitudinal y observacional en ancianos de 60 años o más residentes en Uberaba, Minas Gerais, Brasil. Los datos sociodemográficos, de salud y de los exámenes físicos se recolectaron en el 2014 y el 2016 utilizando el *Mini-Mental State Examination* (MMSE), el índice de Katz, la escala de Lawton y Brody, la *Short Physical Performance Battery* (SPPB) y el *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ). Para la evaluación combinada se consideró el punto de corte de 150 minutos semanales de actividad física y el percentil 75 (420 minutos/día) para el comportamiento sedentario, lo que arrojó los siguientes grupos: insatisfactorio (suma insuficiente de actividad física y comportamiento sedentario), intermedio (pérdida en uno solo de los dos componentes) y satisfactorio (suma suficiente de actividad física y comportamiento sedentario). El análisis estadístico descriptivo e inferencial se hizo con el *Statistical Package for Social Sciences*™, versión 21.0,  $p < 0,05$ .

**Resultados.** De los 374 ancianos, 61 (16,3 %) mejoraron su condición de actividad física y comportamiento sedentario, 226 (60,4 %) permanecieron en la misma categoría y 87 (23,3 %) empeoraron. Los niveles insatisfactorios de actividad física y comportamiento sedentario se asociaron con una mayor edad ( $p = 0,031$ ), la ausencia de actividad profesional ( $p < 0,001$ ), la dependencia para las actividades instrumentales de la vida diaria ( $p = 0,013$ ) y un peor rendimiento físico ( $p < 0,001$ ).



**Conclusiones.** Los resultados evidenciaron una relación entre los factores sociodemográficos y de salud con la actividad física y el comportamiento sedentario, lo que reitera la necesidad de nuevos estudios sobre la salud del anciano.

**Palabras clave:** actividad motora; conducta sedentaria; salud del anciano; factores de riesgo; estudios longitudinales; encuestas epidemiológicas.

Population aging is a manifestation of world order. In Brazil, this process is ostensibly taking place at a rapid pace. From 2005 to 2015, the proportion of people aged 60 or more increased from 9.8% to 14.3%. It is estimated that by 2070 the portion of the elderly will correspond to 35% of the Brazilian population (1), which indicates the need for public health to turn to such projections. In general, the changes in physical, physiological, psychological, and social spheres related to aging can be easier if a more-active lifestyle is adopted (2). The recommendations of the World Health Organization (WHO) regarding care strategies to respond to the demands of the population aging in the world refer precisely to physical activity (3) considering that physical inactivity is responsible for 9% of deaths worldwide (4), which means it is the fourth mortality risk factor (3).

Older adults should get at least 150 minutes of moderate physical activity per week in series of at least 10 minutes continuously or 75 minutes of vigorous intensity per week in series of at least 10 minutes continuously in any of these four areas: Work, commuting/transport home, and leisure (3). However, besides not achieving the recommended values of physical activity, older people tend to spend too much time on tasks that require minimal energy expenditure, such as staying in a sitting position (5,6).

In this context, we have to consider sedentary behavior, which refers to the exposure to activities that require energy expenditure slightly higher than sitting, reclining, or lying during wakefulness. Watching TV, using the computer or mobile phone, working or studying in a table are examples of activities that require low energy expenditure (7). Older adults are the age group more exposed to sedentary behavior amounting to 65 to 80% of their waking time (6). There is evidence linking this exposure with an increased risk of mortality from all causes, chronic diseases such as diabetes mellitus, cardiovascular disease, and obesity (8).

Although they may be analyzed similarly, sedentary behavior and physical inactivity are not the same, as they are constructs with different determinants and physiological health-related responses. Sedentary behavior does not imply the absence of physical activity or non-compliance with physical activity recommendations (<150 min/week) (9,10). In this sense, it is possible to combine the two constructs based on the interaction of both behaviors, i.e., individuals may display enough physical activity up to the minimum of 150 minutes per week and still spend many hours a day in sedentary activities, or spend a few hours dedicated to low-energy expenditure activities similar to rest or accumulated levels of physical activity. The two components may be also negatively affected, which is the least favorable scenario, or they may be both satisfactory, which is the ideal condition for health (9). In this sense, these behaviors are not mutually exclusive (7) and they are influenced by historical conjunctures, technological apparatus, and modern lifestyle leading to setbacks in habits and routines. Today, much less time and intensity are spent in physical activity while much more time is dedicated to sedentary behavior (5,11).

Sedentary behavior is an emerging topic in public health, but the combined approach with physical activity allowing for deeper scrutiny of their relationship

and their implications for health is even more recent (5,12). Furthermore, cross-sectional studies predominate over longitudinal ones (5,13) that enable establishing relations of cause and effect. In this context, our study aimed at verifying the transition and the factors related to the level of physical activity combined with sedentary behavior among community elders followed for 24 months.

### Materials and methods

We conducted an observational, longitudinal, prospective, quantitative study among individuals aged 60 years or over with no cognitive decline residing in the urban area of the municipality of Uberaba, Brazil. The data were collected from January to April, 2014, and from April to July, 2016, in an elderly care home by trained interviewers after informed consent. The initial selection was done with multistage cluster sampling considering a 95% confidence interval, 80% power, 4% error rate for interval estimates, and  $\pi=0.5$  for the proportions of interest, which resulted in 816 older adults. Details about the sample selection were described in previous publications (14). There were 106 losses in the first evaluation due to census tracts with no elderly (n=32), no residence (n=36), an incomplete number of elderly (n=19), and a lack of data on the elderly (n=19).

Of the 710 older adults interviewed in 2014, 374 completed the follow-up in the second evaluation in 2016 after the full interview. The others had cognitive decline (85), refused to participate (42), were not found after three attempts of contact (65), died (39), moved (55), were hospitalized (10), and for other reasons, namely addresses not found and missing data (40).

We obtained data on gender (male / female), age group (60 to 79 years / 80 or over), education (no education / 1-4 years / 5 or more), marital status (no companion / companion), occupation (yes / no), income (no / up to one minimum wage / 2 or more), housing (alone / with others), health perception (negative / positive), morbidities (no morbidities / 1-4 / 5 or more), hospitalization in the last 12 months (yes / no), and falls in the last 12 months (yes / no). We divided age groups into two: younger old (60 to 79 years) and older old (80 years or over) due to the conceptual relevance of dichotomization, already usual in the literature, the sample size, and the ease for the interpretation of results. Having two heterogeneous and contrasting groups allows for a better understanding of the impact of this variable on the outcome.

Also, we used the Mini-Mental State Examination (MMSE) for the cognitive screening test considering education as the cutoff point (15) and the Basic Activities of Daily Living Scale (Katz scale) (16), which allowed us to classify the elderly between dependent or independent. We evaluated the Instrumental Activities of Daily Living (IADL) using the Lawton and Brody Scale and we subsequently classified between dependent or independent persons (17).

We used the Short Physical Performance Battery (SPPB) to evaluate the physical performance with tests of balance, gait speed, and strength of the lower limbs classifying participants into four categories: Inability or very bad performance, low performance, moderate performance or good performance (18).

The level of physical activity was estimated using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in its long version (19). This instrument addresses issues concerning the minutes spent on physical activities of moderate to vigorous intensity performed during a usual week. The individuals

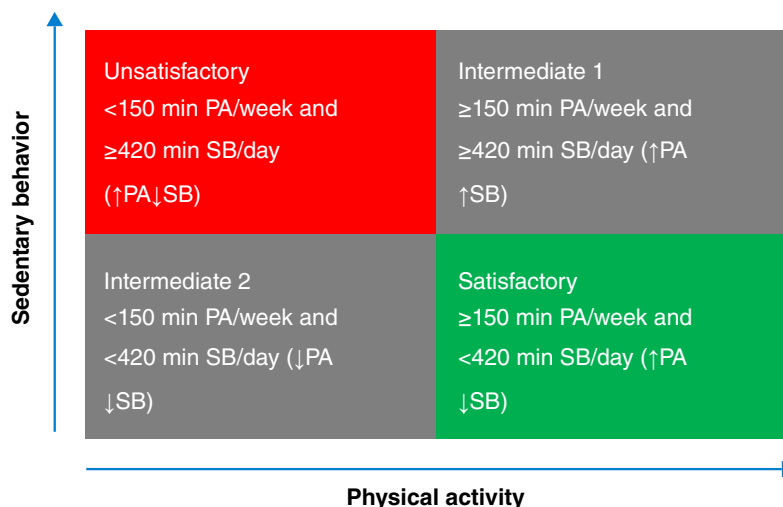
were considered sufficiently active when they spent 150 minutes or more per week on tasks in the four domains of the IPAQ: Work, transportation, housework, and leisure activities. Those accumulating less than 150 minutes were classified as insufficiently active (20).

For measuring the sedentary behavior, we used the 5th section of the IPAQ, which determines the time an individual remains seated or awake during a usual day of the week and one during the weekend (19). We considered the time spent sitting in different situations (while resting, during meals, reading, watching television, handling electronic devices, and visiting or in other similar contexts) and in many places (home, work, church, offices, community groups, among others). The exposure to sedentary behaviors was calculated based on the weighted average [(week x 5) + (end of week x 2)] / 7. In the absence of a cutoff point for sedentary behavior in the literature, we used percentile 75 of the time spent seating from the first moment of the evaluation (2014) up to the classification of high sedentary behavior ( $\geq P_{75}$ ) or low one ( $< P_{75}$ ), a procedure used in other similar studies (21-23); in the present study it corresponded to 420 minutes/day with low sedentary behavior corresponding to 0 to 419 minutes of the time spent seating in a week-day and high to 420 or more minutes of the time spent seating in a week-day.

The evaluation of the physical activity level combined with sedentary behavior (time seated) was based on the cutoff point of 150 minutes per week and in the 75 percentile value, respectively (figure 1) and we established four categories of analysis for each combined variable. Subsequently, we grouped intermediate classes 1 and 2 (with only one of the variables being unfavorable) in three categories: Unsatisfactory, intermediate, and satisfactory.

Data were entered into a Microsoft Office Excel™ spreadsheet and later transferred to the Statistical Package for Social Sciences™ (SPSS), version 21.0. We conducted the descriptive statistical analysis, of percentages and absolute frequencies, measures of central tendency and variability, and chi-square test to compare proportions. The adjusted analysis was performed by a multinomial logistic regression-non-parametric Wilcoxon test.

The project was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Triângulo Mineiro, under registration No. 493.211 and 573.833.



Adapted from: Sedentary Behavior Research Network, 2017

**Figure 1.** Categorization of the variable level of physical activity combined with sedentary behavior

## Results

Table 1 compares the categories of the physical activity levels combined with sedentary behavior according to the sociodemographic data of the elderly in 2014 and 2016. It is worth noting that during the two periods evaluated the highest proportion of unsatisfactory and intermediate groups corresponded to the elderly aged 80 years or older while the group of satisfactory level corresponded to the 60 to 79-year-old participants ( $p=0.002$  and  $p<0.001$ , respectively). Older adults with no companion prevailed in the unsatisfactory group at baseline in contrast to a higher incidence of those with a partner in intermediate and satisfactory categories ( $p=0.021$ ). There was a prevalence of elderly who did not have any professional activity in the unsatisfactory and intermediate groups while those with some professional activity prevailed in the satisfactory category during the two periods analyzed ( $p<0.001$ ).

Table 2 shows the categories of physical activity level combined with sedentary behavior according to the health data of the elderly in 2014 and 2016. The negative perception of health among the elderly of unsatisfactory and intermediate categories at the moment of the final evaluation was evidenced while those classified as satisfactory had positive self-perceived health status ( $p=0.038$ ). Regarding basic daily life activities, there was a greater proportion of dependent elderly in the unsatisfactory and intermediate groups and independent people in the satisfactory category at baseline ( $p=0.037$ ). This feature was also observed in instrumental activities of daily living in the two evaluation periods ( $p<0.001$ ). Regarding the physical performance of the lower limbs, the lowest response (worst performances) was registered among the elderly in the unsatisfactory and intermediate groups as compared with the satisfactory group both in 2014 and 2016 ( $p<0.001$ ).

**Table 1.** Distribution of absolute and relative frequencies of sociodemographic and economic variables of the elderly according to the level of physical activity combined with sedentary behavior at baseline and after 24 months, Uberaba, MG, Brazil, 2014 and 2016

Variables	Physical activity combined with sedentary behavior						p*	p*
	Unsatisfactory		Intermediate		Satisfactory			
	2014 n (%)	2016 n (%)	2014 n (%)	2016 n (%)	2014 n (%)	2016 n (%)		
Gender								
Male	16 (12.6)	10 (7.9)	31 (24.4)	51 (40.2)	80 (63.0)	66 (52.0)	0.496	0.326
Female	24 (9.7)	23 (9.3)	53 (21.5)	80 (32.4)	170 (68.8)	144 (58.3)		
Age group (years)								
60 to 79	28 (8.7)	18 (5.8)	69 (21.4)	100 (32.4)	225 (69.9)	191 (61.8)	0.002	<0.001
80 or more	12 (23.1)	15 (23.1)	15 (28.8)	31 (47.7)	25 (48.1)	19 (29.2)		
Education								
No education	6 (10.7)	6 (10.7)	16 (28.6)	21 (37.5)	34 (60.7)	29 (51.8)	0.194	0.461
1 to 4 years	26 (13.2)	17 (8.6)	37 (18.8)	75 (38.1)	134 (68.0)	105 (53.3)		
5 or more	8 (6.6)	10 (8.3)	31 (25.6)	35 (28.9)	82 (67.8)	76 (62.8)		
Marital status								
No companion	30 (14.8)	21 (10.4)	43 (21.2)	75 (37.1)	130 (64.0)	106 (52.5)	0.021	0.242
Companion	10 (5.8)	12 (7.0)	41 (24.0)	56 (32.6)	120 (70.2)	104 (60.5)		
Professional activity								
Yes	18 (6.7)	18 (6.9)	51 (18.9)	77 (29.5)	201 (74.4)	166 (63.6)	<0.001	<0.001
No	22 (21.2)	15 (13.3)	33 (31.7)	54 (47.8)	49 (47.1)	44 (38.9)		
Income								
No income	-	-	6 (18.2)	12 (34.3)	27 (81.8)	23 (65.7)	0.103	0.283
Up to a salary	25 (14.2)	14 (9.0)	39 (22.2)	59 (37.8)	112 (63.6)	83 (53.2)		
Two or more salaries	15 (9.1)	19 (10.4)	39 (23.6)	60 (32.8)	111 (67.3)	104 (56.8)		
Housing								
Alone	11 (13.6)	9 (11.1)	23 (28.4)	31 (38.3)	47 (58.0)	41 (50.6)	0.163	0.475
Accompanied	29 (9.9)	24 (8.2)	61 (20.8)	100 (34.1)	203 (69.3)	169 (57.7)		

\* Chi square test,  $p<0.05$

There was a decrease in the number of the elderly in the satisfactory (10.6%) and unsatisfactory (1.9%) groups, as well as an increase in the intermediate category (12.5%), with a greater variation and a statistically significant difference ( $p=0.026$ ) (table 3). In fact, a large percentage of older adults left the satisfactory condition and migrated to the intermediate one (17.6%), which means their health condition deteriorated. In contrast, 5.3% of the aged moved from the unsatisfactory to the intermediate category indicating a positive evolution from the perspective of physical activity and sedentary behavior constructs.

Variables with  $p<0.20$  in the crude analysis were eligible for analysis by the multinomial logistic regression model. After adjustment, they kept a greater chance of progression to the unsatisfactory and intermediate categories

**Table 2.** Distribution of absolute and relative frequencies of the health variables of the elderly according to the level of physical activity combined with sedentary behavior at baseline and after 24 months, Uberaba, MG, Brazil, 2014 and 2016

Variables	Physical activity combined with sedentary behavior						p*	p*
	Unsatisfactory		Intermediate		Satisfactory			
	2014 n (%)	2016 n (%)	2014 n (%)	2016 n (%)	2014 n (%)	2016 n (%)		
Health perception								
Negative	26 (12.2)	23 (11.3)	51 (23.9)	77 (37.9)	136 (63.8)	103 (50.7)	0.332	0.038
Positive	14 (8.7)	10 (5.8)	33 (20.5)	54 (31.6)	114 (70.8)	107 (62.6)		
Morbidities								
None	2 (11.1)	-	2 (11.1)	2 (25.0)	14 (77.8)	6 (75.0)	0.390	0.508
1 to 4	10 (7.3)	15 (11.1)	32 (23.4)	43 (31.9)	95 (69.3)	77 (57.7)		
5 or more	28 (12.8)	18 (7.8)	50 (22.8)	86 (37.2)	141 (69.4)	127 (55.0)		
Hospitalization								
Yes	11 (17.5)	4 (7.8)	15 (23.8)	21 (41.2)	37 (58.7)	26 (51.0)	0.132	0.612
No	29 (9.3)	29 (9.0)	69 (22.2)	110 (34.1)	213 (68.5)	184 (57.0)		
Falls								
Yes	13 (14.4)	11 (12.1)	27 (30.0)	37 (40.7)	50 (55.6)	43 (47.3)	0.033	0.120
No	27 (9.5)	22 (7.8)	57 (20.1)	94 (33.2)	200 (70.4)	167 (59.0)		
BADL								
Independent	37 (10.1)	30 (8.4)	82 (22.4)	124 (34.6)	247 (67.5)	204 (57.0)	0.037	0.195
Dependent	3 (37.5)	3 (18.8)	2 (25.0)	7 (43.8)	3 (37.5)	6 (37.5)		
IADL								
Independent	4 (2.3)	2 (1.8)	34 (19.9)	26 (23.2)	133 (77.8)	84 (75.0)	<0.001	<0.001
Dependent	36 (17.7)	31 (11.8)	50 (24.6)	105 (40.1)	117 (57.6)	126 (48.1)		
SPPB								
Very bad	13 (56.5)	10 (35.7)	9 (39.1)	13 (46.4)	1 (4.3)	5 (17.9)	<0.001	<0.001
Low	12 (23.5)	7 (11.5)	16 (31.4)	31 (50.8)	23 (45.1)	23 (37.7)		
Moderate	7 (5.0)	14 (9.1)	32 (22.7)	58 (37.7)	102 (72.3)	82 (53.2)		
Good	8 (5.0)	2 (1.5)	27 (17.0)	29 (22.1)	124 (78.0)	100 (76.3)		

BADL: Basic Activities of Daily Living; IADL: Instrumental Activities of Daily Living; SPPB: Short Physical Performance Battery

\* Chi square test,  $p<0.05$

**Table 3.** Evolution of the level of physical activity combined with sedentary behavior among the elderly during follow-up, Uberaba, MG, Brazil, 2014 and 2016

	Evolution of physical activity level combined with sedentary behavior		
	2014 n (%)	2016 n (%)	p*
Satisfactory (PA ↑ ↓ SB)	250 (66.8)	210 (56.2)	
Intermediate (PA ↑ ↑ SB) (PA ↓ ↓ SB)	84 (22.5)	131 (35.0)	0.026
Unsatisfactory (PA ↓ ↑ SB)	40 (10.7)	33 (8.8)	

PA: Physical activity; SB: Sedentary behavior

\*  $p<0.05$ , Wilcoxon test

**Table 4.** Multinomial logistic regression for variables associated with physical activity combined with sedentary behavior among the elderly, Uberaba, MG, Brazil, 2014 and 2016

Variables	PA and SB Adjusted Analysis					
	Intermediate			Unsatisfactory		
	OR	CI95%	p*	OR	CI95%	p*
Age group (years)						
60 to 79		1			1	<b>0.031</b>
80 or more	1,433	0.679 to 3.023	0.345	2,930	1.102 to 7.793	
Education						
No education	1,448	0.734 to 2.856	0.286	1,468	0.543 to 3.968	0.450
Education		1			1	
Professional activity						
Yes		1			1	
No	3,036	1.710 to 5.389	<0.001	5,472	2.355 to 12.716	<0.001
Health perception						
Negative	1,127	0.645 to 1.967	0.675	1,129	0.472 to 2.703	0.785
Positive		1			1	
IADL						
Dependent	1,157	0.666 to 2.011	0.604	4,242	1.358 to 13.254	0.013
Independent		1			1	
SPPB (score)	0.789	0.704 to 0.883	<0.001	0.649	0.559 to 0.754	<0.001

IADL: Instrumental Activities of Daily Living; SPPB: Short Physical Performance Battery; OR: Odds ratio; CI: Confidence interval

Reference category: satisfactory

\* Chi square test,  $p < 0.05$

for those participants with no professional activity compared to those who worked. Not having an occupation increased by 3.03 times the chance of transition to the intermediate group and 5.47 to the unsatisfactory group ( $p < 0.001$ ). A similar behavior in terms of moving to the intermediate and unsatisfactory groups was observed among those with low scores on the assessment of lower limbs physical performance as opposed to those who had high scores ( $p < 0.001$ ). Older adults aged 80 or older were 2.93 times more likely to move to the unsatisfactory group ( $p = 0.031$ ) than the younger elderly. Similarly, those dependent for instrumental activities of daily living were 4.24 times more likely to migrate to the unsatisfactory group ( $p = 0.013$ ) compared to the independent elderly (table 4).

## Discussion

This survey confirmed the transition among the factors related to the combination of physical activity and sedentary behavior in a sample of community older adults.

The descriptive results showed consistency to detect lower levels of physical activity and longer time of sedentary behavior in agreement with other studies among the oldest seniors (24) with no professional activity (25), poor health perception, limitations for daily living activities, and low physical performance (26).

However, studies were inconclusive regarding gender, education, and income, factors mostly associated with reduced levels of physical activity and extended periods of sedentary behavior (27,28), which alludes to the existence of other variables influencing this behavior such as the socio-cultural, historical, and environmental factors (25,29).

It is noteworthy that, in addition to the methodological heterogeneity applied in the studies, most of them assessed physical activity and sedentary

behavior variables independently and not in a combined form thus limiting the scope of possible comparisons with our results and hindering more accurate observations and assertive inferences. In general, an increase in the time of sitting as age advances is to be expected. However, in our case, the short follow-up period to guarantee obtaining data by self-report may have contributed to the decrease of 11.06% in sedentary behavior.

As for the combined evaluation of the constructs, a population-based cross-sectional study conducted among 452 elderly with the same instrument and cutoff point we used (150 min for physical activity and percentile 75 for sedentary behavior) also reported a higher percentage of subjects with satisfactory levels of physical activity and sedentary behavior (n=205; 45.4%) in the combined evaluation. There was a higher percentage for those with low physical activity and sedentary behavior (n=142; 31%) classified in the intermediate 2 group in our study. Thirty-five (7.7%) of the individuals were included in the intermediate 1 group, i.e., that a higher number than in any of the two moments in our study (n=70; 15.5%) had unsatisfactory levels of physical activity and sedentary behavior (21).

A similar study in Spain among 433 individuals with 55 years or more collecting data through validated self-report instruments and considering a cutoff point of 3 hours for sedentary behavior found a higher prevalence of inactive subjects with high sedentary behavior (48.9% among men and 42% among women). Besides, more women (27.9%) than men (16.1%) were inactive and had low sedentary behavior, more men (21.0%) than women (15%) were active and had high sedentary behavior and the percentage of men (14.0%) and women (15.0%) who were active and had low sedentary behavior was similar (12). These differences in results may be explained by the diversity of instruments and cutoff points adopted.

In our study, although we registered the transition of subjects from the satisfactory to the intermediate group, the percentage of the elderly who remained in the satisfactory category was higher, a finding that may be associated with the short follow-up period, which did not allow large changes related to physical activity and sedentary behavior-related habits.

After adjustment through multinomial logistic regression, there was a greater chance of transition to the intermediate category of the elderly with no professional activity and very poor and low lower limb physical performance. For the unsatisfactory category, besides the absence of professional activity and very poor and low physical performance, the oldest age group and those dependent for performing instrumental activities of daily living were also more likely to migrate.

Other researchers have also reported that the oldest among the elderly spent more time sitting and/or had a lower level of physical activity (25,26,30-33). It is assumed that there is a 5% increase per year in the daily time spent in sedentary behavior after the age of 65 years (34).

Reductions in physical activity levels and the increase in sedentary behavior are characteristics partially expected among the oldest of the old as a response to biological decline (35), especially in socially less-favored regions (24). Additionally, psychosocial and environmental factors can elicit a shrinkage in physical activity and sedentary behavior (28,30). For example, approximately 50% of the elderly sedentary behavior is attributed to the leisure domain (36) reaching 92.1% among those aged 80 or more (35). It may be

that in some cultures the increase in the sedentary time dedicated to leisure is understood as a reward for the years of work (31). Finnish and Japanese retired elderly aged 65 to 75 have reported more time watching TV than those who still had professional activities (37). The modification of physical activity-related habits post-retirement may be linked to the reduction of social relations established in jobs and an increase in the time spent at home (21).

It is important to note that retiring does not necessarily have a negative connotation in one's life. As far as physical activity concerns, it is possible to dedicate more time to leisure or even maintain some informal work activity. Besides individual aspects, sociocultural factors may influence the adoption of physical activity patterns after retirement.

Dependence for the performance of instrumental activities in daily living has also been associated with the decrease in the physical activity-sedentary behavior combination in this follow-up. Similarly, the insufficiency of physical activity evaluated separately was associated with dependency on instrumental activities in daily living (PR=1.47) among elderly people living in the community in inner Northeast (33). Similarly, higher scores in the Lawton and Brody scale correlated significantly with the two highest tertiles of physical activity in a population of 2,000 Colombian elderly (38).

Referring few problems in implementing instrumental activities in daily living was a factor related to a higher chance of achieving the recommended levels of physical activity among those aged 50 or more in five countries with low- and middle-income (28), which implies the existence of bidirectional interaction between activity and function in the elderly (39). Additionally, in three of these countries (China, México, and South Africa) greater difficulties in instrumental activities in daily living were related to sedentary behavior above 4 hours a day (28). This, added to the need for physical activity interventions to minimize the occurrence of disability in daily activities, reiterates the necessity of health education programs for the elderly (40).

The decline of the lower limb physical performance was also predictive of the worsening condition of physical activity and sedentary behavior standards. The decline in physical function has been related to aging and subsequent negative effects such as mobility difficulties and disabilities (38). Other authors have shown the inverse relationship between sedentary behavior and physical performance (39). Consistently, a Swedish prospective study conducted among older adults and elderly identified a declining trend of total physical activity levels and increased sedentary behavior and little physical activity time among those aged 60 or more after 6 years of follow-up (41).

A sample of 375 older adults living in Presidente Prudente (São Paulo) that spent a long time in sedentary behavior during leisure had a greater chance of low physical performance (OR=2.35) regardless of the physical activity level (42). Along 12.3 years of follow-up, physical function suffered loss among the women aged 50 to 79 who reported a long time spent on sedentary behavior at baseline (43). A time of 4 or more daily hours remaining seated had a negative impact on balance, limb strength, upper limb flexibility, gait speed, and resistance among 457 women aged 65 or more (44). Similarly, in Portugal, a long time spent in sedentary behavior was negative for muscle strength of upper and lower limbs, agility, dynamic balance, and flexibility of the elderly regardless of the moderate to vigorous physical activity. Parallel to this, despite the time spent in sedentary behavior, high levels of moderate to vigorous physical activity were related to higher resistance and flexibility of the upper limbs (45).



The absence of muscle contraction and visible motor stimuli in sitting and lying positions reduced the amount of muscle mass and quality of movement and influenced the physical capacity, and, therefore, the functionality of the elderly (42).

Older adults with functional limitations randomized into an intervention group with physical activity and a group of health educational guidance benefited from the increasing gait speed and higher scores on the SPPB after 24 months in the multicenter clinical trial of the Lifestyle Interventions and Independence for Elders Study network (the LIFE Study). There was also a dose-dependent effect as 48 minutes a week of increasing regular physical activity were sufficient to promote physical gains. The incidence of disability was reduced in the highest quartile of physical activity compared to the lowest one (HR=0.23) (40).

As in our analysis, a Spanish study categorized and investigated the combination of physical activity and sedentary behavior among 433 older adults and the elderly (55-88 years). Using self-report instruments, the subjects were classified as inactive and with high sedentary behavior (48.9% of men and 42.1% of women), inactive and low sedentary behavior (16.1% of men and 27.9% of women), active and high sedentary behavior (21.0% of men and 15.0% of women), and active and low sedentary behavior (14.0% of men and 15.0% of women) (12).

In contradiction with our findings and possibly explained by the methodological differences, the condition corresponding to the unsatisfactory category prevailed while we registered the lowest levels in the satisfactory group. The study, which considered more than 3 hours a day as high sedentary behavior, compared the physical performance of the four groups listed. According to the authors, the worse aerobic endurance and reduced lower limb strength were reported among men of the two inactive groups, regardless of the sedentary behavior. Regarding agility, this was greater in the inactive and low sedentary behavior group. When the six-minute walk and the sit-to-stand tests were performed, there was a significant difference between the inactive and low sedentary behavior groups and the active and low sedentary behavior one, as well as between the inactive and high sedentary behavior groups and the active and low sedentary behavior one (12).

Thus, the older adults who devoted more time to physical activity or less time to sedentary behavior had better physical performance (26). Although the accumulation of long periods of sedentary behavior and few interruptions are associated with worse health outcomes, there is no consensus on whether physical activity interventions are more effective in reducing the sedentary behavior than those specifically focused on it. Anyway, the social component of the actions must take into account the accessibility of the elderly to the interventions (13).

Additionally, the characteristics related to local culture can impact the opportunity and access of specific groups, such as older people, to programs and means of improving the behavioral patterns associated with physical activity (45).

Refraining from performing physical activity due to personal constraints, third parties or the environment reinforces the inductive loop of deconditioning and its repercussions on the physical, cognitive, and emotional health (46). Therefore, health professionals should be prompted to adopt more positive behaviors regarding physical activity and sedentary behavior.

Considering the potential risks of the combination of low levels of physical activity and high sedentary behavior for health, interventions addressing the improvement of both behaviors should be prioritized (13,32,39). From a wider perspective, public policies should provide conditions for access and maintenance of healthy habits favoring aging with more quality.

The discrepancies in the results of different studies are partly explained by methodological variations (8) in the definitions of the terms, the cutoff points, and the follow-up time, as well as the acquirement methods (objective and subjective measurements) and data analytical management (categorization), the heterogeneity of demographic variables (developed or developing countries), and the health condition of participants, factors that hinder the comparisons and the conclusions on the outcomes.

In the survey we used, given that the follow-up period was 24 months, there was a further evolution of the physical activity and sedentary behavior for the intermediate category than for the unsatisfactory one. Nevertheless, our study allowed for the identification of the relationship between the combined variable and the sociodemographic and clinical characteristics of the elderly population. Our results emphasize the need for practices involving the work of multidisciplinary teams using the elements that make up the every-day reality of the elderly. In this sense, the implications for the practice should consider broader aspects beyond the biological component of physical activity and sedentary behavior.

Some limitations of the study should be taken into account: The high percentage of individuals lost during the follow-up and the difficulty of generalizing the results considering the intrinsic characteristics of the population (demography and cultural conditions).

Our study had a short follow-up period and used questionnaires to survey the variables of physical activity and sedentary behaviors (minimized through proper training of evaluators and the preserved cognition of the elderly verified by using the MMSE for the reminiscence issues). The combined evaluation of the constructs of physical activity and sedentary behavior, as well as the longitudinal design, not widely adopted in studies on the subject yet, stand out as relevant points of this research.

Further studies are required to elucidate the interaction of these two factors in the health of the elderly, a population groups with its peculiarities that, therefore, requires specific interventions.

## References

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Síntese de Indicadores Sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira (Internet). Rio de Janeiro: IBGE; 2016. Accessed on: August 26, 2018. Available from: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv98965.pdf>
2. Milanović Z, Pantelić S, Trajković N, Sporiš G, Kostić R, James N. Age-related decrease in physical activity and functional fitness among elderly men and women. *Clin Interv Aging*. 2013;8:549-56. <https://doi.org/10.2147/CIA.S44112>
3. Organização Mundial de Saúde. Atividade física. Geneva: WHO; 2014. Accessed on: January 16, 2018. Available from: [http://actbr.org.br/uploads/conteudo/957\\_FactSheetAtividadeFisicaOMS2014\\_port\\_REV1.pdf](http://actbr.org.br/uploads/conteudo/957_FactSheetAtividadeFisicaOMS2014_port_REV1.pdf)
4. Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT, *et al*. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: An analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet*. 2012;380:219-29. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61031-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61031-9)

5. Hallal PC, Andersen LB, Bull FC, Guthold R, Haskell W, Ekelund U, *et al.* Global physical activity levels: Surveillance progress, pitfalls, and prospects. *Lancet*. 2012;380:247-57. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60646-1](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60646-1)
6. Wullems JA, Verschueren SM, Degens H, Morse CI, Onambélé GL. A review of the assessment and prevalence of sedentarism in older adults, its physiology/health impact and non-exercise mobility counter-measures. *Biogerontology*. 2016;17:547-65. <https://doi.org/10.1007/s10522-016-9640-1>
7. Sedentary Behaviour Research Network. Standardized use of the terms “sedentary” and “sedentary behaviours.” *Appl Physiol Nutr Metab*. 2012;37:540-42. <https://doi.org/10.1139/H2012-024>
8. Rezende LFM, Rey-López JP, Matsudo VKR, Luiz OC. Sedentary behavior and health outcomes among older adults: a systematic review. *BMC Public Health*. 2014;14:133. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-333>
9. Farias Júnior JC. Atividade física e comportamento sedentário: estamos caminhando para uma mudança de paradigma? *Rev Bras Ativ Fis Saúde*. 2011;16:279-80. <https://doi.org/10.12820/rbafs.v.16n4p279-280>
10. Pate RR, O’neill JR, Lobelo F. The evolving definition of “sedentary.” *Exerc Sport Sci Rev*. 2008;36:173-8.
11. Bailey DP. Sedentary behavior in human health and disease. *Front Physiol*. 2017;8:901. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00901>
12. Aparicio-Ugarriza R, Pedrero-Chamizo R, Bibiloni MD, Palacios G, Sureda A, Meléndez-Ortega A, *et al.* A novel physical activity and sedentary behavior classification and its relationship with physical fitness in spanish older adults: The PHYSMED study. *J Phys Act Health*. 2017;14:815-22. <https://doi.org/10.1123/jpah.2016-0263>
13. Dogra S, Ashe MC, Biddle SJ, Brown WJ, Buman MP, Chastin S, *et al.* Sedentary time in older men and women: an international consensus statement and research priorities. *Br J Sports Med*. 2017;51:1526-32. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2016-097210>
14. Tavares DMS, Pelizaro PB, Pegorari MS, Paiva MM, Marchiori GF. Functional disability and associated factors in urban elderly: A population-based study. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum*. 2016;18:499-508. <https://doi.org/10.5007/1980-0037.2016v18n5p499>
15. Bertolucci PF, Brucki SM, Campassi SR, Juliano Y. O miniexame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade. *Arq Neuropsiquiatr*. 1994;52:1-7. <https://doi.org/10.1590/S0004-282X1994000100001>
16. Lino VJ, Pereira SE, Camacho IA, Ribeiro Filho ST, Buksman S. Adaptação transcultural da Escala de Independência em Atividades de Vida Diária (Escala de Katz). *Cad Saúde Pública*. 2008;24:103-12. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2008000100010>
17. Santos RL, Virtuoso Júnior JS. Confiabilidade da versão brasileira da escala de atividades instrumentais da vida diária. *Rev Bras Promoç Saúde*. 2008;21:290-6.
18. Nakano MM. Versão Brasileira da Short Physical Performance Battery – SPPB: adaptação cultural e estudo da confiabilidade (dissertação). Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas; 2007. p. 181.
19. Benedetti TR, Mazo GZ, Barros MV. Aplicação do Questionário Internacional de Atividades Físicas para avaliação do nível de atividades físicas de mulheres idosas: validade concorrente e reprodutibilidade teste-reteste. *Rev Bras Ciênc Mov*. 2004;12:25-34.
20. Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA, Bouchard C, *et al.* Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA*. 1995;273:402-7. <https://doi.org/10.1001/jama.1995.03520290054029>
21. Camilo BF. Comportamento sedentário, atividade física e estado nutricional de idosos (dissertação). Uberaba, MG: Universidade Federal do Triângulo Mineiro; 2017. p. 71.
22. Inoue S, Sugiyama T, Takamiya T, Oka K, Owen N, Shimomitsu T. Television viewing time is associated with overweight/obesity among older adults, independent of meeting physical activity and health guidelines. *J Epidemiol*. 2012;22:50-6. <https://doi.org/10.2188/jea.JE20110054>
23. Santos DA. Atividade física, comportamento sedentário e a sintomatologia depressiva em idosos (dissertação). Uberaba, MG: Universidade Federal do Triângulo Mineiro; 2013. p. 77.

24. McPhee JS, French DP, Jackson D, Nazroo J, Pendleton N, Degens H. Physical activity in older age: perspectives for healthy ageing and frailty. *Biogerontology*. 2016;17:567-80. <https://doi.org/10.1007/s10522-016-9641-0>
25. Sousa NF, Lima MG, Cesar CL, Barros MB. Envelhecimento ativo: prevalência e diferenças de gênero e idade em estudo de base populacional. *Cad Saúde Pública*. 2018;34:e00173317. <https://doi.org/10.1590/0102-311x00173317>
26. Santos DA, Silva AM, Baptista F, Santos R, Vale S, Mota J, *et al.* Sedentary behavior and physical activity are independently related to functional fitness in older adults. *Exp Gerontol*. 2012;47:908-12. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.07.011>
27. Heseltine R, Skelton DA, Kendrick D, Morris RW, Griffin M, Haworth D, *et al.* "Keeping Moving": Factors associated with sedentary behaviour among older people recruited to an exercise promotion trial in general practice. *BMC Fam Pract*. 2015;16:67. <https://doi.org/10.1186/s12875-015-0284-z>
28. Gaskin C, Orellana L. Factors associated with physical activity and sedentary behavior in older adults from six low- and middle-income countries. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15:E908. <https://doi.org/10.3390/ijerph15050908>
29. Guerra PH, Mielke GI, Garcia LM. Comportamento sedentário. *Corpoconsciência*. 2014;18:23-36.
30. Dogra S, Stathokostas L. Correlates of extended sitting time in older adults: An exploratory cross-sectional analysis of the Canadian Community Health Survey Healthy Aging Cycle. *Int J Public Health*. 2014;59:983-91. <https://doi.org/10.1007/s00038-014-0540-3>
31. Ku P-W, Fox KR, Chen L-J. Leisure-time physical activity, sedentary behaviors and subjective well-being in older adults: an eight-year longitudinal research. *Soc Indic Res*. 2016;127:1349-61. <https://doi.org/10.1007/s11205-015-1005-7>
32. Meneguci J, Sasaki JE, Santos AS, Scatena LM, Damião R. Socio-demographic, clinical and health behavior correlates of sitting time in older adults. *BMC Public Health*. 2015;15:65. <https://doi.org/10.1186/s12889-015-1426-x>
33. Queiroz BM, Coqueiro RS, Leal Neto JS, Borgatto AF, Barbosa AR, Fernandes MH. Inatividade física em idosos não institucionalizados: estudo de base populacional. *Ciênc Saúde Colet*. 2014;19:3489-96. <https://doi.org/10.1590/1413-81232014198.19882013>
34. Shiroma EJ, Freedson PS, Trost SG, Lee IM. Patterns of accelerometer-assessed sedentary behavior in older women. *JAMA*. 2013;310:2562-3. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.278896>
35. Mourão AR, Novais FV, Andreoni S, Ramos LR. Atividade física de idosos relacionada ao transporte e lazer, Maceió, Brasil. *Revista de Saúde Pública*. 2013;47:1112-22. <https://doi.org/10.1590/S0034-8910.2013047004904>
36. Leask CF, Harvey JA, Skelton DA, Chastin SFM. Exploring the context of sedentary behaviour in older adults (what, where, why, when and with whom). *Eur Rev Aging Phys Act*. 2015;12:4. <https://doi.org/10.1186/s11556-015-0146-7>
37. Tsuji T, Amemiya A, Shirai K, Stenholm S, Pentti J, Oksanen, T, *et al.* Association between education and television viewing among older working and retired people: A comparative study of Finland and Japan. *BMC Public Health*. 2018;18:917. <https://doi.org/10.1186/s12889-018-5860-4>
38. Cano-Gutiérrez C, Borda MG, Reyes-Ortiz C, Arciniegas AJ, Samper-Ternent R. Evaluación de factores asociados al estado funcional en ancianos de 60 años o más en Bogotá, Colombia. *Biomédica*. 2017;37(Supl.1):57-65 <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.3197>
39. Copeland JL, Ashe MC, Biddle SJ, Brown WJ, Buman MP, Chastin S, *et al.* Sedentary time in older adults: A critical review of measurement, associations with health, and interventions. *Br J Sports Med*. 2017;51:1539. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2016-097209>
40. Fielding RA, Guralnik JM, King AC, Pahor M, McDermott MM, Tudor-Locke C, *et al.* Dose of physical activity, physical functioning and disability risk in mobility-limited older adults: Results from the LIFE study randomized trial. *PLOS ONE*. 2017;12:e0182155. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182155>
41. Hagströmer M, Kwak L, Oja P, Sjöström M. A 6-year longitudinal study of accelerometer-measured physical activity and sedentary time in Swedish adults. *J Sci Med Sport*. 2015;18:553-57. <https://doi.org/10.1016/j.jsams.2014.07.012>

42. Bertolini GN, Santos VR, Alves MJ, Cervellini PC, Christofaro DG, Santana LF, *et al.* Relação entre alto comportamento sedentário no lazer e baixa funcionalidade de idosos. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.* 2016;18:713-21. <https://doi.org/10.5007/1980-0037.2016v18n6p713>
43. Seguin R, LaMonte M, Tinker L, Liu J, Woods N, Michael YL, *et al.* Sedentary behavior and physical function decline in older women: findings from the Women's Health Initiative. *J Aging Res.* 2012;2012:271589. <https://doi.org/10.1155/2012/271589>
44. Morales S, Gómez-Cabello A, González-Agüero A, Casajús JA, Ara I, Vicente-Rodríguez G. Sedentarismo Y condición física en mujeres posmenopáusicas. *Nutr Hosp.* 2013;28:1053-59. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.4.6459>
45. World Health Organization. Global action plan on physical activity 2018–2030: more active people for a healthier world. Geneva: WHO; 2018. Accessed on: November 10, 2018. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272722/9789241514187-eng.pdf>
46. Safons M, Pereira MM, Costa JN, Lima RM. Metodologias gerontológicas aplicadas ao exercício físico para o idoso. In: Freitas EV, Py L, editors. *Tratado de geriatria e gerontologia.* 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2017. p. 1410-9.

Original article

## Anti-inflammatory and antioxidant activity of essential amino acid $\alpha$ -ketoacid analogues against renal ischemia–reperfusion damage in Wistar rats

Concepción Sánchez-Martínez<sup>1</sup>, Liliana Torres-González<sup>2</sup>, Gabriela Alarcón-Galván<sup>3</sup>, Linda E. Muñoz-Espinosa<sup>2</sup>, Homero Zapata-Chavira<sup>4</sup>, Diana Patricia Moreno-Peña<sup>2</sup>, Homero Náñez-Terrerros<sup>5</sup>, Edelmiro Pérez-Rodríguez<sup>4</sup>, Lourdes Garza-Ocañas<sup>6</sup>, Francisco Javier Guzmán-de la Garza<sup>7,8</sup>, Paula Cordero-Pérez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro Regional de Enfermedades Renales, Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario “Dr. José E. González”, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México

<sup>2</sup> Unidad de Hígado, Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario “Dr. José E. González”, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México

<sup>3</sup> Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de Monterrey, San Pedro Garza García, México

<sup>4</sup> Servicio de Trasplantes, Hospital Universitario “Dr. José E. González”, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México

<sup>5</sup> Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario “Dr. José E. González”, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México

<sup>6</sup> Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México

<sup>7</sup> Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México

<sup>8</sup> Centro de Investigación Biomédica del Noreste, Instituto Mexicano del Seguro Social, Monterrey, México

**Received:** 01/01/2019

**Accepted:** 07/10/2019

**Published:** 08/10/2019

**Citation:**

Sánchez-Martínez C, Torres-González L, Alarcón-Galván G, Muñoz-Espinosa LE, Zapata-Chavira H, Moreno-Peña DP, Náñez-Terrerros H, Pérez-Rodríguez E, Garza-Ocañas L, Guzmán-de la Garza FJ, Cordero-Pérez P. Anti-inflammatory and antioxidant activity of essential amino acid  $\alpha$ -ketoacid analogues against renal ischemia–reperfusion damage in Wistar rats. *Biomédica*. 2020;40:336-48. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4875>

**Corresponding author:**

Paula Cordero Pérez, Unidad de Hígado, Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario “Dr. José E. González”, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Gonzalitos 235 Col. Mitras Centro CP 64460, Monterrey, Nuevo León, México  
Teléfono: (52) (81) 8329 4205  
paucordero@yahoo.com.mx

**Author contributions:**

Concepción Sánchez-Martínez and Liliana Torres-González: Research concept and design, collection and assembly of data, data analysis and interpretation, and writing of the manuscript  
Gabriela Alarcón-Galván: Collection and assembly of data, data analysis and interpretation  
Linda E. Muñoz-Espinosa, Lourdes Garza-Ocañas: Data analysis and interpretation  
Homero Zapata-Chavira and Francisco Javier Guzmán-de la Garza: Collection and assembly of data, data analysis and interpretation, and writing of the manuscript  
Diana Patricia Moreno-Peña and Homero Náñez-Terrerros: Collection and assembly of data and writing of the manuscript  
Edelmiro Pérez-Rodríguez: Research concept and design  
Paula Cordero-Pérez: Research concept and design, data analysis and interpretation  
All authors approved the final version of the manuscript.

**Funding:**

The present work was financed with resources from the Liver Unit.

**Conflicts of interest:**

The authors declare no conflicts of interest.

**Introduction:** Essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs are used in the treatment of chronic kidney disease to delay the symptoms of uremia. However, it is unknown whether essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs affect the oxidative stress and the inflammation in acute renal injury such as those produced by ischemia-reperfusion.

**Objective:** To evaluate the effect of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs on renal ischemia-reperfusion injury in Wistar rats.

**Materials and methods:** Rats were divided into 11 groups (n=6/group): Two groups received physiological saline with or without ischemia-reperfusion injury (45 min/24 h), six groups received essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs (400, 800, or 1,200 mg/kg/24 h/7d) with or without ischemia-reperfusion injury (essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs + ischemia-reperfusion), and two groups received allopurinol (50 mg/kg/24 h/7d) with or without ischemia-reperfusion injury. Biochemical markers included creatinine and blood urea nitrogen (BUN), proinflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$ ), renal damage markers (cystatin C, KIM-1, and NGAL), and markers of oxidative stress such as malondialdehyde (MDA) and total antioxidant activity.

**Results:** The essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analog- and allopurinol-treated groups had lower levels of creatinine, BUN, renal damage markers, proinflammatory cytokines, and MDA than their corresponding ischemia-reperfusion groups. These changes were related to the essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs dosage. Total antioxidant activity was lower in essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analog- and allopurinol-treated groups than in the corresponding ischemia-reperfusion groups.

**Conclusions:** This is a new report on the nephroprotective effects of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs against ischemia-reperfusion injury. Essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs decreased the levels of biochemical markers, kidney injury markers, proinflammatory cytokines, and MDA while minimizing total antioxidant consumption.

**Keywords:** Ischemia; reperfusion injury; renal insufficiency, chronic; inflammation; oxidative stress; models, theoretical.

### Actividad antiinflamatoria y antioxidante de los $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales en un modelo de daño por isquemia-reperusión en ratas Wistar

**Introducción.** Los  $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales se utilizan en el tratamiento de la enfermedad renal crónica para retrasar los síntomas de la uremia. Sin embargo, se desconoce si los  $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales afectan el estrés oxidativo y la inflamación en la lesión renal aguda tal como en la producida por la isquemia-reperusión.

**Objetivo.** Evaluar el efecto de las  $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales sobre la lesión renal por isquemia-reperusión en ratas Wistar.

**Materiales y métodos.** Se emplearon 11 grupos de ratas (n=6): dos grupos recibieron solución salina fisiológica con lesión isquemia-reperfusión o sin ella (45 min/24 h), seis grupos recibieron  $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales (400, 800 o 1.200 mg/kg/24 h/7d) con lesión isquemia-reperfusión o sin ella ( $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales + isquemia-reperfusión), y dos grupos recibieron (50 mg/kg/24 h/7d) con lesión isquemia-reperfusión o sin ella. Los marcadores bioquímicos incluyeron creatinina y nitrógeno ureico en sangre (BUN), citocinas proinflamatorias (IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ ), marcadores de daño renal (cistatina C, KIM-1 y NGAL) y marcadores del estrés oxidativo como el malondialdehído (MDA) y la actividad antioxidante total.

**Resultados.** Los grupos tratados con  $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales y alopurinol tuvieron niveles inferiores de creatinina, BUN, marcadores de daño renal, citocinas proinflamatorias, actividad antioxidante total y MDA que los grupos isquemia-reperfusión correspondientes. Estos cambios se asociaron con la dosis. La actividad antioxidante total fue menor en los grupos tratados con  $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales que en los grupos isquemia-reperfusión correspondientes.

**Conclusiones.** Este es un nuevo informe de los efectos nefroprotectores de las  $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales contra la lesión isquemia-reperfusión. Los  $\alpha$ -cetoanálogos de aminoácidos esenciales disminuyeron los niveles de los marcadores bioquímicos, de los de lesión renal, de las citocinas proinflamatorias y el MDA, a la vez que minimizaron el consumo total de antioxidantes.

**Palabras clave:** isquemia; daño por perfusión; insuficiencia renal crónica; inflamación; estrés oxidativo; modelos teóricos.

Essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs are used as conservative treatment of chronic kidney disease to reduce the production of metabolites of nitrogen degradation, improve the glomerular filtration rate, and delay the need for substitution treatment (1). The beneficial effect of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs along with a low-protein diet in treating chronic kidney disease was first described in the 1970s (2) and the treatment is still used. A recent meta-analysis reported that essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs can delay the progression of chronic kidney disease by limiting hyperphosphatemia, preventing hyperparathyroidism, and improving the control of arterial blood pressure and malnutrition. Essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs are recommended in the treatment of stages 3 to 5 chronic kidney disease (3).

However, it is not clear whether essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs have other beneficial effects, especially in the early stages of chronic kidney disease or in acute kidney injury. Acute kidney injury can be caused by acute tubular necrosis as a result of various types of ischemia. Renal ischemia is observed in a variety of clinical situations, such as recovery after cardiac arrest, liver and kidney transplantation, and partial nephrectomy. Acute kidney injury observed after ischemia is characterized by decreased glomerular filtration rate, tubular necrosis, and increased renal vascular resistance. These changes can cause damage to tubular cells through the release of reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide and an increased intracellular calcium concentration, which can in turn trigger mitochondrial damage through the depletion of antioxidants, cell-mediated cytotoxicity, and inflammatory response (4). These processes are similar to those occurring in chronic kidney disease, in which a series of events triggers the process of fibrosis or scarring through a cytokine-mediated inflammatory response that can activate extracellular matrix-producing cells in the glomerulus and tubules and lead to the repair or scarring of various renal components (5).

Ischemia-reperfusion injury occurs when the blood supply is cut off for a prolonged period and is then suddenly perfused with oxygenated blood (6). This process is characterized by the release of ROS and an intense inflammatory response provoked by the cellular response to the damaged tissue. Ischemia-



reperfusion injury can be studied in animal models involving bilateral ischemia or heminephrectomy followed by ischemia of the remaining kidney. Bilateral ischemia is the preferred model because of its similarity to the pathological process in humans (7,8). Heminephrectomy has been used to evaluate the nephroprotective activity of drugs such as allopurinol, rosuvastatin, aliskiren, and rutin that are considered as nephroprotective (8-11).

Essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs may provide new agents for nephroprotection strategies, mainly for treating acute kidney injury and the early stages of chronic kidney disease. Understanding whether essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs have nephroprotective activity is the first step in developing new therapeutic strategies for the use of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs as more than a nutritional supplement.

The principal objective of this study was to evaluate the effects of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs on the inflammatory response and oxidative stress in a model of renal damage caused by ischemia-reperfusion injury in Wistar rats. As secondary objectives, we initially established the dose to be used not to generate hepatotoxicity or nephrotoxicity through biochemical markers and renal damage based on this established dose while the nephroprotective effect was evaluated through biochemical markers, proinflammatory mediators, and oxidative stress markers. Finally, we evaluated the effect of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs on various typical markers of renal damage and histological changes in renal architecture post ischemia-reperfusion with and without administration of the selected dose of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs.

## Materials and methods

### Animals

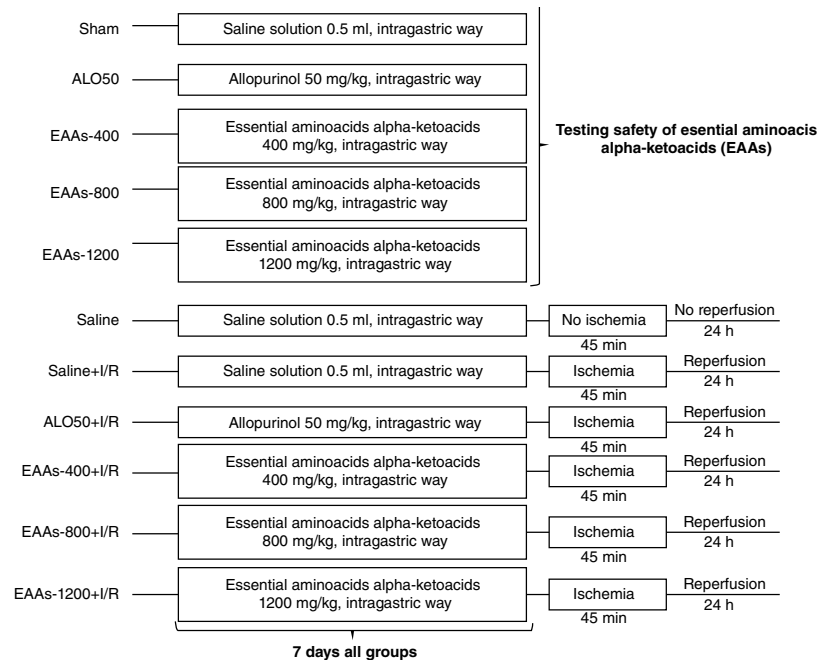
Experiments were performed using Wistar rats weighing 250-300 g in the *Departamento de Farmacología y Toxicología* of the *Facultad de Medicina* at *Universidad Autónoma de Nuevo León*, México. All animals were maintained in polypropylene cages at standard temperature (23-27°C) with 12 h light/dark periods and *ad libitum* access to water and standard food for rodents (Prolab diet 2500). Every experiment complied with the Mexican Official Norm NOM-062-ZOO-1999 specifications and was approved by the committee for the institutional care and use of laboratory animals with the registration number (HI17-00001).

### Experimental design

The animals were randomly divided into 11 groups with six rats in each group. The first five groups were used for evaluation of toxicity and groups 6 to 11 to evaluate nephroprotection. All doses evaluated were adjusted to a volume of 0.5 mL (figure 1).

The chemicals used were saline solution (CS PISA solution™, GDL México, sodium chloride 0.9%), allopurinol (Zyloprim™ tablets, Aspen Port Elizabeth Pty, Ltd, Reg. No. 86270 SSA IV), essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs (Cetolán Laboratorios Columbia™ Reg. No. 122M2016 SSA IV), xylazine (Sedaject, Vedilab S.A. de C.V. Reg. SAGARPA Q-0088-122), ketamine (Anesket, PISA Agropecuaria, S.A. de C.V. Reg. SAGARPA Q7833-028).





**Figure 1.** Experimental design of the study groups in the timeline

The rats were anesthetized with xylazine (10 mg/kg, intraperitoneally (ip)) and ketamine (100 mg/kg, ip). A small incision was made in the midline of the abdomen through which the renal pedicle was occluded with microvascular clamps; adequate occlusion was verified by cyanotic changes in both kidneys. The microvascular clamps were removed after 45 min to induce reperfusion, which was confirmed by verifying blood flow restoration. The abdominal incision was closed with a 4-0 suture. All experiments were performed under aseptic conditions.

The animals were monitored for 24 h and were allowed *ad libitum* access to water and food. The rats of the sham group received the same surgical procedure but without ischemia-reperfusion. Every animal was euthanized after obtaining blood and kidney tissue samples for evaluation.

### **Blood and tissue samples**

Blood was collected from each animal, allowed to clot, and centrifuged at 3,500 rpm for 15 min, and the serum was separated for later measurement of the concentrations of proinflammatory cytokines, biochemical markers, and kidney injury biomarkers. The kidneys were removed and divided longitudinally. One side was placed in a cryotube and immediately frozen in dry ice for later measurement of the concentrations of oxidative stress markers. The other side was fixed with formaldehyde in phosphate buffer (pH 7.4) for 24 h, embedded in paraffin, sectioned, and stained with hematoxylin and eosin to evaluate the histological alterations.

### **Measurement of proinflammatory cytokine concentrations**

Serum concentrations of the proinflammatory cytokines interleukin 6 (IL-6), interleukin 1-beta (IL-1 $\beta$ ), and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) were measured using commercial sandwich ELISA kits (Rat IL-6 ELISA Development Kit<sup>TM</sup>, Rat IL-1 $\beta$  ELISA Development Kit<sup>TM</sup>, and Rat TNF- $\alpha$  ELISA Development Kit<sup>TM</sup>, respectively, PeproTech, México City, México).

Avidin-peroxidase and 2,2-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid were used as the chromogen and the absorbance was measured by spectrophotometry at 405 nm.

### **Biochemical markers**

The serum concentrations of total proteins, albumin, urea nitrogen (BUN), creatinine, uric acid, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), and alkaline phosphatase (ALP) were measured using an ILAB-Aries self-analyzer spectrophotometer and diagnostic kits (Instrumentation Laboratory, Milan, Italy) according to the supplier's specifications.

### **Kidney injury biomarkers**

The serum levels of cystatin C (CysC), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), and kidney injury molecule-1 (KIM-1) were measured using commercial ELISA-sandwich kits (Quantikine ELISA, Mouse/Rat Cystatin C Immunoassay, R&D Systems, (Minneapolis, MN, USA), Lipocalin-2 (NGAL) Rat ELISA Kit, Abcam 119602, Cambridge, MA, USA, KIM-1 (TIM-1) Rat ELISA Kit, Abcam 119597, respectively) and then analyzed by spectrophotometry at 450 nm.

### **Oxidative stress markers**

Malondialdehyde (MDA) concentration was measured using a thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) assay and a TBARS Assay Kit™ (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA). The reaction product, which is proportional to the concentration of MDA in the sample, was measured spectrophotometrically at 540 nm. The total antioxidant activity was measured in homogenized kidney tissue using a commercial kit (Antioxidant Assay Kit™, Cayman Chemical Co.). Total antioxidant activity included both enzymatic and nonenzymatic activity and was measured by spectrophotometry at 405 nm.

### **Statistical analysis**

The results were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD). The homogeneity of variance was established and variables with a normal distribution were then analyzed using analysis of variance with multiple group comparisons through Dunnett's test in the Prism software (v. 7.0; GraphPad, San Diego, CA, USA). A p-value of  $<0.05$  was considered to be significant.

## **Results**

### **Evaluation of toxicity**

Essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs did not cause liver or renal toxicity when given at the different doses. The only markers that differed significantly between some of the study groups and the sham group were BUN, creatinine, NGAL, IL-1, and MDA levels (table 1, figure 2).

### **Effects of essential amino acid $\alpha$ -keto acid analogs on damage induced by ischemia-reperfusion injury**

*Biochemical markers.* Compared with the levels in the saline group, the levels of some biomarkers were significantly elevated in the saline + ischemia-reperfusion group: creatinine, BUN, and ALT (figure 3). The levels of other

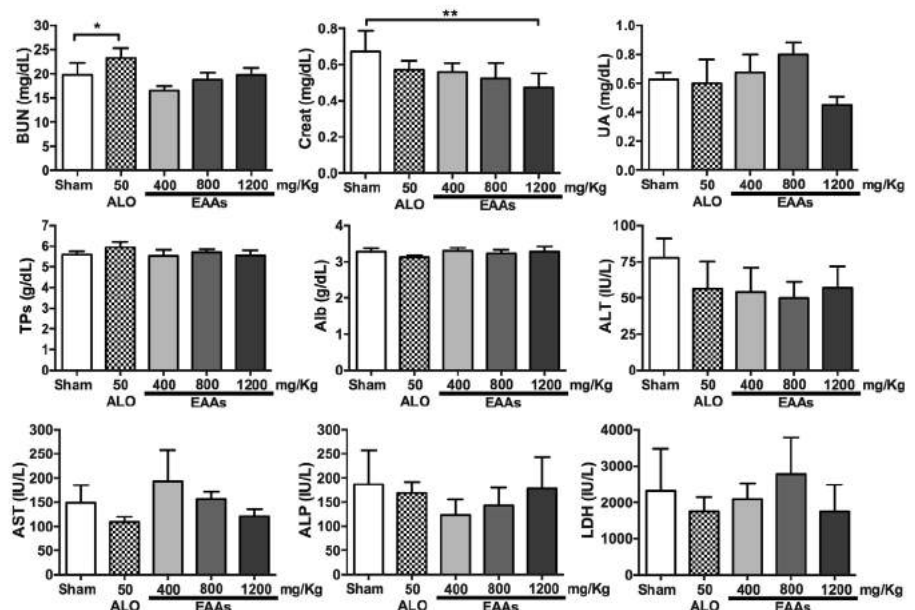
biomarkers were significantly lower in the saline + ischemia-reperfusion group than in the saline group: total proteins, albumin, and uric acid compared with the saline + ischemia-reperfusion group, groups allopurinol 50 + ischemia-reperfusion, essential amino acid α-keto acid analogs-800 + ischemia-reperfusion, and essential amino acid α-keto acid analogs-1,200 + ischemia-reperfusion had significantly lower creatinine and BUN levels. Essential amino acid α-keto acid analogs-400 + ischemia-reperfusion group also had lower creatinine and BUN levels, but the difference was significant only for creatinine level. Of the other biochemical parameters, only ALT concentration was significantly lower in the essential amino acid α-keto acid analogs-1200 + ischemia-reperfusion group than in the saline + ischemia-reperfusion group (figure 3).

**Table 1.** Changes in the serological levels of biochemical markers of kidney damage and proinflammatory cytokines in the toxicity evaluation groups

Variable	Sham	ALO 50 mg/kg	EAA 400 mg/kg	EAA 800 mg/kg	EAA 1,200 mg/kg
CysC (ng/ml)	381.30±37.85	350.80±24.38	287.00±19.07	346.80±23.04	395.50±26.54
KIM-1 (pg/ml)	24.96±9.85	38.98±2.91	26.28±6.40	53.53±21.07	29.23±8.06
NGAL (pg/ml)	113.3±15.4	169.5±13.1*	159.0±11.9	104.0±5.5	170.0±14.1*
IL-1β (ng/ml)	0.35±0.19	0.41±0.09	0.82±0.06*	0.46±0.06	0.93±0.13*
IL-6 (ng/ml)	1.25±0.25	1.36±0.31	1.33±0.15	1.92±0.38	0.92±0.29
FNTα (ng/ml)	1.05±0.28	0.79±0.14	0.93±0.25	1.14±0.23	0.82±0.20
MDA (uM)	0.75±0.30	3.50±0.34***	1.46±0.25	1.96±0.39*	1.97±0.27*
AOxT (mM)	2.59±0.10	2.63±0.13	2.78±0.06	2.72±0.08	2.58±0.11

ALO: Allopurinol; EAA: Essential amino acid α ketoacid analogues; CysC: Cystatin C; KIM-1: Kidney injury molecule-1; NGAL: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin; IL-1β: interleukin 1 beta; IL-6: interleukin 6; FNT-α: tumor necrosis factor alpha; MDA: malondialdehyde; AOxT: activity of the total antioxidants  
 Values are expressed as mean ± SD, sham group vs. study groups.

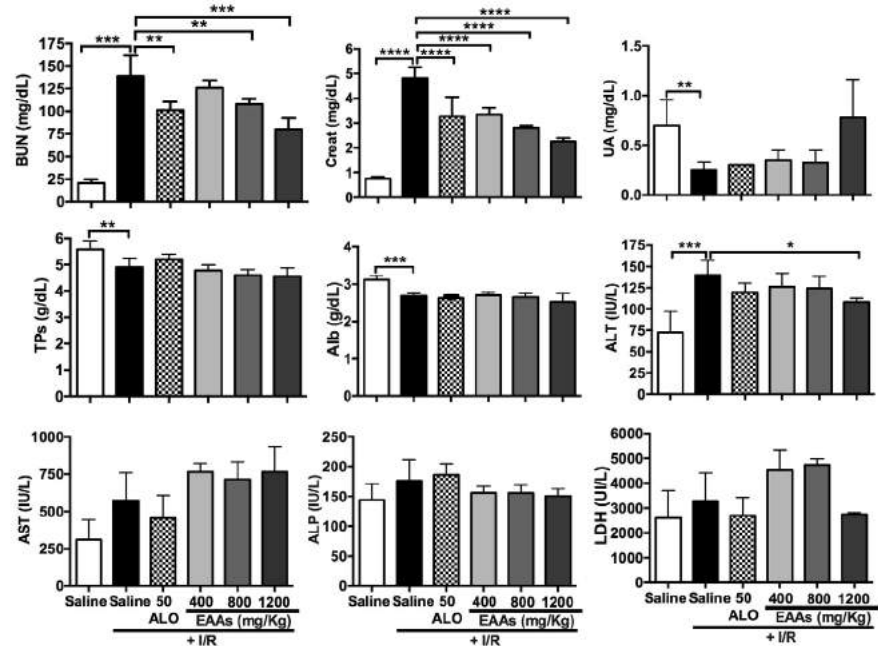
\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001



BUN: Blood urea nitrogen; Creat: Creatinine; UA: Uric acid; TPs: Total proteins; Alb: Albumin; ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; ALP: Alkaline phosphatase; LDH: Lactate dehydrogenase; I/R: Ischemia-reperfusion; ALO: Allopurinol; EAAs: Essential amino acid α-ketoacid analogues  
 Values are expressed as mean ± SD.

\* p<0.05, \*\* p<0.01

**Figure 2.** Changes in the serological levels of biochemical markers in toxicity study depending of treated groups (2-5) and sham control (Group 1).



BUN: Blood urea nitrogen; Creat: Creatinine; UA: Uric acid; TPs: Total proteins; Alb: Albumin; ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; ALP: Alkaline phosphatase; LDH: Lactate dehydrogenase.; I/R: Ischemia-reperfusion; ALO: Allopurinol; EAAs: Essential amino acid  $\alpha$ -ketoacid analogs

Saline group + I/R (7) vs. sham group (6) and treated groups (8-11)

Values are expressed as mean  $\pm$  SD.

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$

**Figure 3.** Changes in serum levels of biomarkers in the study of nephroprotection.

### **Kidney injury biomarkers**

The levels of renal damage indicators (CysC, KIM-1, and NGAL) were significantly higher in the saline + ischemia-reperfusion group than in the saline group. These levels were significantly lower in the groups treated with allopurinol 50 and essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs at various doses than in the saline + ischemia-reperfusion group (figure 4).

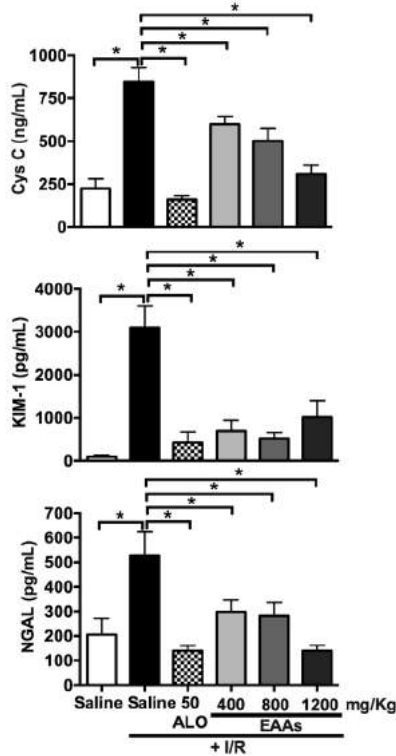
### **Proinflammatory cytokines**

Compared with the saline group, the saline + ischemia-reperfusion group has significantly higher serum levels of the proinflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ . The control group showed a tendency to increase IL-6 levels compared to the sham group. Cytokine levels were significantly lower in the ALO50 + ischemia-reperfusion group than in the saline + ischemia-reperfusion group. A similar pattern was seen in groups treated with essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs at various doses (figure 5).

### **Oxidative stress markers**

Total antioxidant activity was significantly higher in the saline + ischemia-reperfusion group than in the saline group. Total antioxidant activity was significantly lower in the allopurinol 50 + ischemia-reperfusion and essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs + ischemia-reperfusion groups than in the saline + ischemia-reperfusion group, and this effect increased with the dose of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs. The MDA level was significantly higher in the saline + ischemia-reperfusion group than in the saline-only group. The increment in MDA level was significantly smaller in the ALO50

+ ischemia-reperfusion and essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs + ischemia-reperfusion groups than in the saline + ischemia-reperfusion group, and this effect increased with the dose of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs (figure 6).

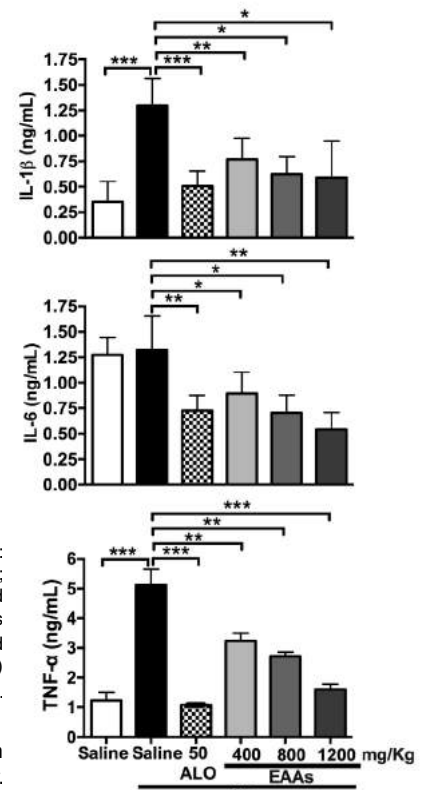


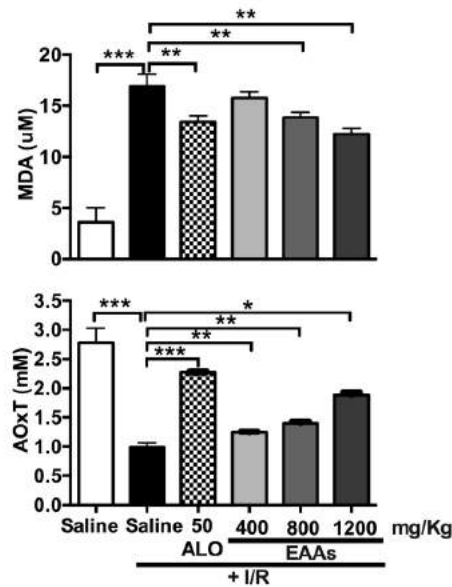
CysC: Cystatin C; KIM-1: Kidney injury molecule-1; NGAL: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin.; I/R: Ischemia-reperfusion; ALO: Allopurinol; EAAs: Essential amino acid  $\alpha$ -ketoacid analogs  
Saline group + I/R (7) vs. sham group (6) and treated groups (8-11)  
Values are expressed as mean  $\pm$  SD.  
\*  $p < 0.0001$

**Figure 4.** Changes in kidney injury biomarkers in the nephroprotection study.

IL-1 $\beta$ : Interleukin 1 beta; IL-6: Interleukin 6; TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor alpha; I/R: Ischemia-reperfusion; ALO: Allopurinol; EAAs: Essential amino acid  $\alpha$ -ketoacid analogues  
Saline group + I/R (7) vs. sham group (6) and treated groups (8-11)  
Values are expressed as mean  $\pm$  SD.  
\*  $p < 0.01$ , \*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*  $p < 0.0001$

**Figure 5.** Changes in proinflammatory cytokines in the nephroprotection study.

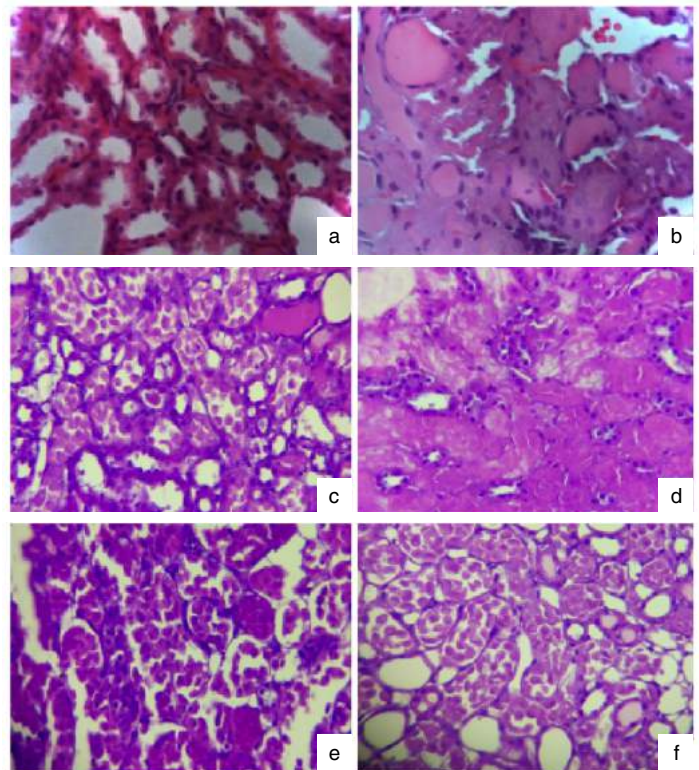




MDA: Malondialdehyde; AOxT: Activity of the total antioxidants; I/R: Ischemia-reperfusion; ALO: Allopurinol; EAAs: Essential amino acid  $\alpha$ -ketoacid analogs Saline group + I/R (7) vs. sham group (6) and treated groups (8-11) Values are expressed as mean  $\pm$  SD. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*  $p < 0.0001$

**Figure 6.** Changes in oxidative stress markers in the nephroprotection study.

**Figure 7.** Histological findings in the study groups with and without damage by ischemia-reperfusion (H & E, 40X). **a)** S.S.: Preserved tubules. **b)** I/R: Acute tubular necrosis and intratubular cylinders. **c)** ALO + I/R: Medulla with acute tubular necrosis of convoluted tubules. **d)** EAAs 400 + I/R: Diffuse ischemic necrosis. **e)** EAAs 800 + I/R: Acute necrosis of juxtamedullary convoluted tubule. **f)** EAAs 1200 + I/R: Acute tubular necrosis of proximal tubules in medulla, preserved cortex I/R: Ischemia-reperfusion injury; ALO: Allopurinol; EAA: Essential amino acid  $\alpha$ -ketoacid analogs



### Histological analysis

The saline-treated group showed normal renal parenchyma and preserved tubules and glomeruli, whereas the ischemia-reperfusion group showed necrosis of the tubular epithelium in 90% of the medulla and 80% of the cortex. The allopurinol 50 + ischemia-reperfusion group showed ischemic necrosis in 50% of the cortex and acute necrosis of the distal convoluted tubule. The other essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs + ischemia-reperfusion groups showed similar effects as those observed in the allopurinol 50 + ischemia-reperfusion group (figure 7).

## Discussion

Chronic kidney disease is currently considered a threat to global health as the number of patients increases rapidly (12). Chronic kidney disease is characterized by the development of glomerulosclerosis and interstitial fibrosis and involves the interactions of various factors such as angiotensin II, growth factors, cytokines, and oxygen metabolites (13).

### ***The restriction of proteins in the diet is an important therapy for people with chronic kidney disease.***

Keto acid effects have been evaluated in patients with chronic kidney disease on a protein-restricted diet (14) but not in acute kidney injury patients. One study compared the efficacy of a low-supplemented protein diet (LPD) with keto acids (LPD + KA) and an LPD alone in stopping the development of kidney injury associated with chronic kidney disease in a 5/6 nephrectomy model in Sprague Dawley rats (15). This animal model of chronic kidney disease is characterized by proteinuria, decreased renal function, glomerular sclerosis, and tubulointerstitial fibrosis. Protein restriction decreased the extent of these changes. The effect was greater in the LPD + KA group than in the LPD group, and the LPD + KA group had lower serum levels of BUN and creatinine compared with the LPD group (15).

In our study, animals treated with various doses of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs also had lower BUN and creatinine levels and this effect was dose dependent besides presenting normal liver enzyme levels, which means that at these doses the essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs were neither nephrotoxic or hepatotoxic. However, the levels of albumin, total proteins, and uric acid did not decrease. These findings suggest that essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs may have protected the kidneys from progressive injury by correcting the protein malnutrition in the remnant kidney tissue.

On the other hand, in the renal ischemia-reperfusion model, the levels of mediators of kidney damage, such as MCP-1, KIM-1, and CysC, increased with reperfusion time (16). We found that the levels of some of these damage mediators, such as KIM-1, CysC, and NGAL, decreased considerably in the essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs-treated groups that received the ischemia-reperfusion injury. These data support the nephroprotective effect of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs.

Chronic kidney disease can be exacerbated by oxidative stress, which promotes the production of reactive carbonyl compounds and lipoperoxides that lead to advanced glycosylation accumulation and lipoxidation. ROS react with nitric oxide to produce reactive cytotoxic nitrogen species that are capable of producing nitrate proteins that can damage other molecules (17). Oxidative stress plays an important role in the development and progression of sclerosis and fibrosis in the remnant tissue in models of chronic renal failure (17,18). A low-protein diet, with or without keto acids, has an antioxidant effect in humans with chronic kidney disease and animal models of chronic kidney disease (18,19).

Previous studies in animals have found that essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs combined with a low-protein diet prevent weight loss, normalize albumin levels, maintain nutritional status, and improve the protein malnutrition and injury caused by oxidative stress in the remnant kidney tissue (18). Additionally, in rats submitted to 5/6 nephrectomy, the application of advanced oxidation protein products, which are associated with deterioration

of renal function, imposes greater oxidative stress during the fibrotic process (15). Recently, the nephroprotective effect of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs in the early stages of diabetic nephropathy type 2 was described mediated by the inhibition of oxidative stress through the decrease of MDA and the increase of superoxide dismutase (20).

In our study, we induced kidney damage in Wistar rats by ischemia-reperfusion and found that essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs modified the levels of oxidative stress markers as shown by the attenuated damage in the renal cortex and decreased total antioxidant activity and production of MDA in essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs/ischemia-reperfusion rats compared with ischemia-reperfusion rats. Again, these effects were essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs dose-dependent.

The factors that initiate the cascade of cell damage and the inflammatory response after ischemia-reperfusion leading to kidney damage are not completely understood. Increases in protein concentration have been described, such as the high-mobility group box-1 protein, which is released by kidney cells (particularly vascular and tubular cells) into the venous circulation after renal ischemia-reperfusion damage. This protein induces a rapid release of cytokines (TNF- $\alpha$ , G-CSF, IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6) into the systemic circulation (21,22). One study has reported decreases in the levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, and in TNF- $\alpha$  in patients receiving peritoneal dialysis and treated with keto acids (18). In a rat experimental model with 5/6 nephrectomy treated with keto acids, IL-1 $\beta$  and IL-6 levels increased but TNF- $\alpha$  and IL-18 levels did not change significantly (15). We also observed decreases in the levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, in TNF- $\alpha$  and the kidney damage markers CysC, KIM, and NGAL in the essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs-treated groups; this effect was dependent on the dose of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs. These findings suggest that essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs decreased the inflammatory response to ischemia-reperfusion injury.

The inflammatory response is extremely important in the development of kidney damage; ischemia-reperfusion models are relevant to demonstrate anti-inflammatory effects resulting in delayed kidney damage. This has been demonstrated in several studies, such as the one published by Morida Cunha, where they demonstrated in their ischemia-reperfusion model a nephroprotective effect of the application of amniotic fluid stem cells with increased regulation of vascular endothelial growth factor, which is dose-dependent (23). Other studies have also demonstrated the relationship of other inflammatory markers in the use of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs, for example those involved in mineral and bone metabolism disorders mediated by FGF-23 and Klotho involved in inflammation, oxidative stress, and energetic protein malnutrition in stages 3b and 4 of chronic renal disease associated with a low-protein diet.

The nephroprotective effect in acute damage observed in our study has not been previously reported. This study opens up the possibility of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs efficacy in both acute and chronic kidney disease damage (24).

In conclusion, we show that essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs have a nephroprotective effect against renal ischemia-reperfusion damage. Essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs decreased the levels of biochemical markers, markers of kidney damage, proinflammatory cytokines, and MDA, an effect that was related to the dose of essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs.



Essential amino acid  $\alpha$ -keto acid analogs exerted these protective effects while avoiding the consumption of total antioxidants. There is the possibility of a continuous protective effect even without a restriction of proteins, which would strengthen its use in early stages of chronic kidney disease, as well as its potential application in acute kidney damage and transplantation of solid organs to reduce injury by ischemia-reperfusion or improve the response in non-optimal organs for which studies are required.

## References

1. Cupisti A, Bolasco P. Keto-analogues and essential aminoacids and other supplements in the conservative management of chronic kidney disease. *Panminerva Med.* 2017;59:149-56. <https://doi.org/10.23736/S0031-0808.16.03288-2>
2. Walser M, Coulter AW, Dighe S, Crantz FR. The effect of keto-analogues of essential amino acids in severe chronic uremia. *J Clin Invest.* 1973;52:678-90. <https://doi.org/10.1172/JCI107229>
3. Jiang Z, Zhang X, Yang L, Li Z, Qin W. Effect of restricted protein diet supplemented with keto analogues in chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *Int Urol Nephrol.* 2016;48:409-18. <https://doi.org/10.1007/s11255-015-1170-2>
4. Jefferson JA, Thurman JM. *Pathophysiology and etiology of acute kidney injury.* Philadelphia: Elsevier; 2015. p. 802-17.
5. Liu Y. Cellular and molecular mechanisms of renal fibrosis. *Nat Rev Nephrol.* 2011;7:684-96. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2011.149>
6. Salvadori M, Rosso G, Bertoni E. Update on ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation: Pathogenesis and treatment. *World J Transplant.* 2015;5:52-67. <https://doi.org/10.5500/wjt.v5.i2.52>
7. Wei Q, Dong Z. Mouse model of ischemic acute kidney injury: Technical notes and tricks. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012;303:F1487-94. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00352.2012>
8. Prieto-Moure B, Llori-Carsi JM, Belda-Antoli M, Toledo-Pereyra LH, Cejalvo-Lapeña D. Allopurinol protective effect of renal ischemia by downregulating TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 response. *J Invest Surg.* 2017;30:143-51. <https://doi.org/10.1080/08941939.2016.1230658>
9. Kanno M, Nakayama M, Zhu WJ, Hayashi Y, Kazama JJ. Rosuvastatin pretreatment suppresses distant organ injury following unilateral renal ischemia-reperfusion in hypertensive Dahl salt-sensitive rats. *Nephrology (Carlton).* 2018;23:1046-54. <https://doi.org/10.1111/nep.13169>
10. Ziyak T, Halici Z, Alkan E, Akpınar E, Polat B, Adanur S, *et al.* Renoprotective effect of aliskiren on renal ischemia/reperfusion injury in rats: Electron microscopy and molecular study. *Ren Fail.* 2015;37:343-54. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2014.991327>
11. Korkmaz A, Kolankaya D. Protective effect of rutin on the ischemia/reperfusion induced damage in rat kidney. *J Surg Res.* 2010;164:309-15. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2009.03.022>
12. Collins AJ, Couser WG, Dirks JH, Kopple JD, Reiser T, Riella MC, *et al.* World Kidney Day: An idea whose time has come. *Kidney Int.* 2006;69:781-2. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000250>
13. Eddy AA. Molecular insights into renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 1996;7:2495-508.
14. Garneata L, Mircescu G. Effect of low-protein diet supplemented with keto acids on progression of chronic kidney disease. *J Ren Nutr.* 2013;23:210-3. <https://doi.org/10.1053/j.jrn.2013.01.030>
15. Gao X, Wu J, Dong Z, Hua C, Hu H, Mei C. A low-protein diet supplemented with ketoacids plays a more protective role against oxidative stress of rat kidney tissue with 5/6 nephrectomy than a low-protein diet alone. *Br J Nutr.* 2010;103:608-16. <https://doi.org/10.1017/S0007114509992108>
16. Peng H, Mao Y, Fu X, Feng Z, Xu J. Comparison of biomarkers in rat renal ischemia-reperfusion injury. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8:7577-84.
17. Li HY, Hou FF, Zhang X, Chen PY, Liu SX, Feng JX, *et al.* Advanced oxidation protein products accelerate renal fibrosis in a remnant kidney model. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:528-38. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006070781>
18. Chen W, Guo ZY, Wu H, Sun LJ, Cai LL, Xu HY. Effects of low-protein diet plus alpha-keto acid on micro-inflammation and the relationship between micro-inflammation and nutritional status in patients performing continuous ambulatory peritoneal dialysis: A randomized controlled trial. *Chin J Integr Med.* 2008;6:473-7. <https://doi.org/10.3736/jcim20080508>

19. Zhang Y, Huang J, Yang M, Gu L, Ji J, Wang W, *et al.* Effect of a low-protein diet supplemented with keto-acids on autophagy and inflammation in 5/6 nephrectomized rats. *Biosci Rep.* 2015;35:e00263. <https://doi.org/10.1042/BSR20150069>
20. Liu D, Wu M, Li L, Gao X, Yang B, Mei S, *et al.* Low-protein diet supplemented with ketoacids delays the progression of diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress in the KKAY mice model. *Br J Nutr.* 2018;119:22-9. <https://doi.org/10.1017/S0007114517003208>
21. Rabadi MM, Ghaly T, Goligorsky MS, Ratliff BB. HMGB1 in renal ischemic injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012;303:F873-F85. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00092.2012>
22. Chung KY, Park JJ, Kim YS. The role of high-mobility group box-1 in renal ischemia and reperfusion injury and the effect of ethyl pyruvate. *Transplant Proc.* 2008;40:2136-8. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.06.040>
23. Mori da Cunha MG, Zia S, Beckmann DV, Carlon MS, Arcolino FO, Albersen M, *et al.* vascular endothelial growth factor up-regulation in human amniotic fluid stem cell enhances nephroprotection after ischemia-reperfusion injury in the rat. *Crit Care Med.* 2017;45:e86-e96. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000002020>
24. Milovanova L, Fomin V, Moiseev S, Taranova M, Milovanov Y, Lysenko-Kozlovskaya L, *et al.* Effect of essential amino acid ketoanalogues and protein restriction diet on morphogenetic proteins (FGF-23 and Klotho) in 3b-4 stages chronic kidney disease patients: a randomized pilot study. *Clin Exp Nephrol.* 2018;6:1351-9. <https://doi.org/10.1007/s10157-018-1591-1>

Artículo original

## Calidad de vida en mujeres con cáncer de mama sometidas a quimioterapia en Cali, Colombia

María Elena Mejía-Rojas<sup>1</sup>, Adolfo Contreras-Rengifo<sup>2</sup>, Mauricio Hernández-Carrillo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Enfermería, Grupo de Investigación en Cuidado de Enfermería, Universidad del Valle, Cali, Colombia

<sup>2</sup> Escuela de Odontología, Grupo de Investigación en Medicina Periodontal, Universidad del Valle, Cali, Colombia

<sup>3</sup> Doctorado en Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

**Introducción.** El cáncer de mama es una neoplasia grave que se origina en los tejidos mamarios y cuyo tratamiento demanda quimioterapia, con los consecuentes cambios en la calidad de vida.

**Objetivo.** Determinar los factores de riesgo asociados con la calidad de vida relacionada con la salud en mujeres con cáncer de mama sometidas a quimioterapia en Cali, Colombia.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio observacional y transversal con componente analítico en una muestra de 80 mujeres, utilizando los cuestionarios QLQ-C30 para cáncer y QLQ-BR23 para cáncer de mama, así como información sociodemográfica y clínica. Se hizo un análisis de regresión logística para determinar los factores asociados con las razones de momios (*odd ratios*, OR) ajustadas y un intervalo de confianza (IC) de 95 %; la calidad de vida se clasificó mediante el cuestionario QLQ-BR23.

**Resultados.** Los síntomas más relevantes fueron fatiga, insomnio y pérdida de cabello. Se redujeron la funcionalidad física, las sensaciones de placer y la actividad sexual. Los factores asociados con la baja calidad de vida fueron los síntomas mamarios (OR ajustada=5,5; IC<sub>95%</sub> 1,2-24,8; p=0,038), los efectos secundarios del tratamiento sistémico (OR ajustada=7,3; IC<sub>95%</sub> 2,6-22,1; p=0,012), un menor placer sexual (OR ajustada=1,8; IC<sub>95%</sub> 1,2-11,8; p=0,027) y la reducción de expectativas para el futuro (OR ajustada=4,2; IC<sub>95%</sub> 1,1-17,8; p=0,045).

**Conclusiones.** En las mujeres con cáncer de mama sometidas a quimioterapia, la calidad de vida se vio afectada principalmente por los efectos secundarios del tratamiento, en tanto que los signos y los síntomas más relevantes fueron la pérdida del cabello, el insomnio y la fatiga, además de los síntomas mamarios, la menor funcionalidad física y la menor sensación de placer sexual. Se recomienda la implementación de estrategias de intervención destinadas a mejorar la calidad de vida, y el cuidado físico y emocional de las pacientes.

**Palabras clave:** neoplasias de mama; calidad de vida; quimioterapia; salud de la mujer; Colombia.

**Recibido:** 16/03/2019  
**Aceptado:** 07/11/2019  
**Publicado:** 21/11/2019

### Citación:

Mejía-Rojas ME, Contreras-Rengifo A, Hernández-Carrillo M. Calidad de vida en mujeres con cáncer de mama sometidas a quimioterapia en Cali, Colombia. *Biomédica*. 2020;40:349-61.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.4971>

### Correspondencia:

Mauricio Hernández, Carrera 79B No 9-18, apartamento C303, Cali, Colombia  
Teléfono: (300) 273 3699  
[mauriciohc@gmail.com](mailto:mauriciohc@gmail.com)

### Contribución de los autores:

María Elena Mejía-Rojas: diseño del estudio  
Mauricio Hernández: procesamiento estadístico y epidemiológico de los datos  
Adolfo Contreras-Rengifo: análisis e interpretación de los resultados  
Todos los autores participaron en la escritura y aprobación del manuscrito.

### Financiación:

La investigación se realizó con recursos de la Universidad del Valle.

### Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Quality of life in women treated with chemotherapy for breast cancer in Cali, Colombia

**Introduction:** Breast cancer is a serious neoplasm that originates in mammary tissues whose treatment with chemotherapy seems to generate significant changes in the quality of life.

**Objective:** To determine the risk factors associated with health-related quality of life in women with breast cancer under chemotherapy in Cali, Colombia.

**Materials and methods:** We conducted an observational, cross-sectional study with analytical components in a sample of 80 female patients using the QLQ-C30 questionnaire for cancer, and the QLQ-BR23 for breast cancer, as well as sociodemographic and clinical information. We performed a logistic regression analysis to determine associated risk factors through adjusted OR and 95% CI; the quality of life was classified using the QLQ-BR23.

**Results:** The most relevant symptoms were fatigue, insomnia, and hair loss. Physical functionality, feelings of pleasure, and sexual activity were reduced. The factors associated with low quality of life were mammary symptoms (adjusted OR= 5.5; 95% CI: 1.2-24.8; p = 0.038), systemic therapy side effects (adjusted OR = 7.3; IC95%: 2.6-22.1; p = 0.012), lower sexual pleasure (adjusted OR = 1.8; IC95%: 1.2-11.8; p = 0.027) and reduction of expectations about the future (adjusted OR = 4.2; IC95%: 1.1-17.8; p = 0.045).

**Conclusions:** The quality of life in women with breast cancer and under chemotherapy was mainly affected by the side effects of the therapy; the most relevant signs and symptoms identified were hair loss, insomnia, and fatigue besides breast symptoms, lower physical functionality, and decreased sensation of sexual pleasure. We recommend intervention strategies aimed at improving the quality of life and the physical and emotional care of these patients.

**Keywords:** Breast neoplasms; quality of life; drug therapy; women's health; Colombia.

El cáncer de mama es una neoplasia maligna que requiere tratamiento radical y un diagnóstico temprano; el tumor se extirpa si está localizado, pues produce metástasis y, eventualmente, la muerte. Afecta principalmente a las mujeres y, muy ocasionalmente, a los hombres (1). Según el informe mundial de cáncer del *Global Cancer Observatory* en el 2018, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta el cáncer como la principal causa de muerte a escala mundial. Se estima que cerca de 18 millones de casos nuevos se diagnostican cada año en el mundo (2). Según cifras del Instituto Nacional de Cancerología, en el 2018 se presentaron 101.893 casos nuevos de cáncer en Colombia, 46.057 muertes por todos los tipos de tumores y el número de casos prevalentes a cinco años fue de 230.726 enfermos (3). Según el Registro Poblacional de Cáncer de Cali, en el 2019 se reportaron 754 casos nuevos de cáncer de mama en Cali, es decir, el 23,3 % de todos los tipos de cáncer (4).

La mayoría de las muertes se produce en los países de ingresos bajos y medios, en donde las mujeres con cáncer de mama son diagnosticadas en estadios avanzados debido a la falta de sensibilización sobre la detección precoz y a los obstáculos en el acceso a los servicios de salud (5). En Latinoamérica y el Caribe, el cáncer de mama es el más común entre las mujeres y el segundo en mortalidad, con el mayor porcentaje de muertes en mujeres menores de 65 años (56 %), en comparación con los Estados Unidos y Canadá (37 %) (6).

El cáncer de mama en Colombia ha ido en aumento en los últimos cinco años. Es la tercera causa de muerte por cáncer en mujeres, después del cáncer de cuello uterino y de estómago (7). Según el "Atlas de mortalidad por cáncer", en Colombia se diagnostican al año 5.526 casos y ocurren 2.253 fallecimientos por esta enfermedad, lo que equivale a 15 nuevos diagnósticos y seis muertes por día (8).

Hay grandes diferencias en las tasas de la enfermedad debido a la variación en los factores de riesgo, el tipo de comportamiento reproductivo, el nivel socioeconómico y los antecedentes familiares (9). En el 2019, se esperaba que los servicios oncológicos de Cali diagnosticaran aproximadamente 9.800 nuevos casos de cáncer (10).

Aunque algunas mujeres enfrentan positivamente la experiencia del tratamiento, otras pueden sentirse emocionalmente afectadas debido a cambios en su imagen corporal y en su feminidad. Debido a la mortalidad relativamente alta y a la necesidad de un tratamiento agresivo de un año duración, el diagnóstico de cáncer de mama tiene un gran impacto en la vida de las sobrevivientes. El apoyo familiar y el de la pareja parecen minimizar los efectos secundarios de la quimioterapia, los cuales pueden ocasionar cambios significativos en la calidad de vida. Sin embargo, este importante apoyo con frecuencia desaparece a lo largo del tiempo (11), por lo que debe recalcar su importancia para las pacientes con cáncer.

En este contexto, el presente estudio se propuso determinar la calidad de vida en el marco de su relación con la salud en mujeres con cáncer de mama sometidas a la primera quimioterapia.

Las personas enfrentan diversos cambios durante el proceso de enfermedad, entre ellos el aislamiento social que incrementa los riesgos de las mujeres con cáncer de mama. En este sentido, un estudio previo evidenció que un ambiente social negativo produce un mayor crecimiento tumoral (12).

El diagnóstico de cáncer y la quimioterapia enfrentan a las pacientes con nuevos roles sociales y la necesidad de sobreponerse a sus efectos deletéreos (13). Con frecuencia se produce un cierto aislamiento social acompañado de sentimientos de tristeza. Por ejemplo, la quimioterapia incluye doxorubicina, un medicamento con muchos efectos secundarios, entre ellos, la alopecia (14), lo que exige el uso de pelucas o de gorros, prendas que ya hacen parte del estereotipo social de "paciente con cáncer". Al sentir más cercana la muerte, las mujeres con cáncer de mama preparan a su familia y tratan de minimizar los efectos de la enfermedad y del tratamiento (15).

En un estudio en el que se valoraron las experiencias de vida de mujeres con cáncer de mama sometidas a quimioterapia, se encontró que el aislamiento social comienza con el tratamiento, pues dado que la quimioterapia afecta el sistema inmunitario, los médicos tratantes recomiendan reducir las visitas y las salidas para evitar el riesgo de infección (16). También, la deshidratación y los efectos citotóxicos sobre órganos y tejidos contribuyen a la pérdida de cabello y de la tersura de la piel, factores que afectan la feminidad y la autoestima de la mujer, por lo que se recomienda la intervención psicológica antes y después de la quimioterapia (17). El apoyo familiar y la relación con la pareja son puntos claves en el tratamiento y la recuperación de las mujeres, y se ha reportado su asociación con la supervivencia y un mejor desempeño sexual (18).

La calidad de vida basada en el bienestar, la felicidad y la satisfacción de un individuo, incentiva su capacidad de actuación y le ofrece una sensación positiva de la vida. Se trata de un concepto amplio y muy subjetivo que se ve influenciado por la salud física y mental, el grado de dependencia física y la fortaleza de los círculos sociales de apoyo (19). A pesar de los efectos negativos en la calidad de vida de los pacientes con cáncer, la quimioterapia elimina las células cancerosas y reduce el riesgo de metástasis (20).

Este estudio se guió por la teoría de Peterson y Bredow sobre la calidad de vida relacionada con la salud, quienes la conciben como separada de la calidad global de vida (19). La calidad de vida es multidimensional, multifacética y es útil en la clínica. El modelo de Peterson y Bredow permite valorar la calidad de vida relacionada con la salud según la realidad social y cultural de Colombia, por medio de los cuestionarios QLQ-C30 y QLQ-BR23, aplicados en varios estudios como el de Arraras-Urdaniz, *et al.* (21).

En este contexto, el propósito del presente estudio fue determinar los factores de riesgo asociados con la calidad de vida relacionada con la salud en mujeres con cáncer de mama sometidas a quimioterapia en Cali, Colombia. Los resultados aspiran a contribuir al mejoramiento de las políticas de salud orientadas a la solución de los problemas de las mujeres con cáncer de mama que reciben quimioterapia.

### **Materiales y métodos**

Se hizo un estudio observacional y transversal con componente analítico de asociación de 80 mujeres adultas con cáncer de mama que recibían quimioterapia en un hospital público y en dos instituciones privadas de Cali.

Los criterios de inclusión fueron el ser mujer con diagnóstico de cáncer de mama y estar recibiendo quimioterapia. Los criterios de exclusión fueron el tratamiento con radioterapia o la mastectomía. Se hizo un muestreo no probabilístico a partir de las bases de datos institucionales y se invitó a participar en la investigación a 53 pacientes del Hospital Universitario del Valle, a 18 del Centro Médico Imbanaco y a 9 de Funcancer.

Se recolectaron los datos a partir del segundo semestre del 2017 y hasta junio de 2018, mediante un cuestionario sociodemográfico y dos cuestionarios de calidad de vida de la *European Organisation for Research and Treatment of Cancer* (EORTC) para pacientes con cáncer: la QLQ-C30 y la QLQ-BR23 (específica para cáncer de mama), ambas con pruebas psicométricas validadas en Colombia (20).

El cuestionario QLQ-C30 para pacientes con cáncer está compuesto por 30 ítems divididos en cinco dimensiones funcionales: física, cognitiva, emocional, de desempeño social, y de capacidad para realizar tareas diarias relacionadas con el papel funcional; en tres dimensiones de síntomas: fatiga, náuseas y dolor; en seis elementos individuales: disnea, insomnio, pérdida de apetito, estreñimiento y diarrea, y en dos preguntas sobre la salud en general.

El QLQ-BR 23 es específico para pacientes con cáncer de mama y se compone de 23 ítems incorporados en la medición de los efectos secundarios de las diferentes modalidades de tratamiento; incluye, además, aspectos relacionados con la quimioterapia y los síntomas mamarios, la imagen corporal, la función sexual y las perspectivas futuras. También, se utilizó un cuestionario en el que se indagaba sobre la información socioeconómica, la situación laboral, los antecedentes clínicos, los hábitos y el estilo de vida.

Como variable dependiente, se usó la valoración de la calidad de vida a partir del resultado del cuestionario QLQ-BR23, teniendo en cuenta el puntaje global obtenido (21), el cual se dividió con base en la suma del puntaje de los 23 ítems en la escala de Likert y la estandarización en un puntaje que varió de 0 a 100, siendo el puntaje alto el que indicaba una mejor percepción de la calidad de vida. Las pacientes con valores inferiores o iguales a 50 correspondían a aquellas con mala percepción de la calidad de vida (valor 1), en tanto que los puntajes por encima de 50 correspondieron a pacientes que percibían su calidad de vida como buena (valor 0) (22). En la muestra de 80 pacientes, 40 tenían una percepción negativa de su calidad de vida, y las otras 40 percibían su calidad de vida como buena.

Las variables explicativas para la determinación de los factores de riesgo incluían las sociodemográficas y los dominios de los cuestionarios QLQ-C30 y QLQ-BR23 descritos como sociodemográficos: edad, número de hijos, estado marital, estrato socioeconómico, escolaridad, escolaridad completa, situación laboral, y ocupación. Las variables clínicas y las relacionadas con los servicios de salud, incluyeron: institución, afiliación al sistema de salud, tiempo del diagnóstico (meses), recurso de la tutela, antecedentes familiares de cáncer de mama, progresión de la enfermedad, cirugía, estadio del tumor, clasificación histopatológica, receptores de estrógenos y progesterona, uso de tamoxifeno, dosis formulada si se recibía algún tipo de medicamento, y los marcadores tumorales Her2, Brca y Fish.

Con el cuestionario QLQ-C30, se midieron las variables funcionales físicas, cognitivas, emocionales y de desempeño social, y la capacidad para realizar tareas diarias, así como tres dimensiones de síntomas: fatiga, náuseas y dolor; seis elementos individuales: disnea, insomnio, pérdida de apetito, estreñimiento, diarrea y dificultades financieras, y dos preguntas sobre la salud en general.

Los dominios del cuestionario QLQ-BR23 fueron: imagen corporal, funcionamiento sexual, placer sexual, perspectivas de futuro, efectos secundarios de la terapia sistémica, síntomas mamarios, síntomas braquiales y pérdida de cabello.

El análisis estadístico se hizo con el programa Stata™, versión 14, y en cuadros y gráficos de Excel.

### **Consideraciones éticas**

El estudio fue avalado por el Comité Institucional de Revisión de Ética Humana de la Universidad del Valle según acta de aprobación 012014. En cuanto al uso de los cuestionarios, se obtuvo la firma del consentimiento informado de todas las participantes.

### **Resultados**

Al evaluar las variables de edad ( $p=0,8232$ ) y de número de hijos ( $p=0,0116$ ), solo en la primera se obtuvo normalidad. La edad promedio de las pacientes fue de  $52,7 \pm 12,1$  años en aquellas con percepción negativa de su calidad de vida y de  $54,9 \pm 12,4$  en aquellas con una positiva; los promedios de las escalas funcionales del QLQ C30 y el QLQ BR23 fueron  $65,4 \pm 15,6$  y  $46,9 \pm 12,5$ , respectivamente.

En cuanto a las variables sociodemográficas, se determinaron las frecuencias relativas de cada categoría con los siguientes resultados: 37,5 % correspondía a mujeres casadas, 28,8 % había cursado la primaria, 36,3 % había completado la secundaria, y 60 % de las pacientes estaba trabajando.

Con respecto al estrato socioeconómico, los más prevalentes fueron el 2 y 3, con 46,3 % y 26,3 %, respectivamente. El 70 % de las pacientes había completado su escolaridad; la mediana del número de hijos fue 2 (0 a 4) y, en cuanto al estado marital, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre las distintas categorías ( $p=0,671$ ), como tampoco en el estrato socioeconómico ( $p=0,598$ ) ni en la distribución según escolaridad, con un valor de probabilidad cercano a 1, lo que indica que el comportamiento de esta variable fue significativamente igual independientemente de la percepción que las pacientes tenían de su calidad de vida.

En cuanto a si tenían escolaridad completa, se encontró un resultado similar en ambos grupos ( $p=0,626$ ). La situación laboral también era similar en ambos grupos de pacientes, pues la mayoría se encontraba activa y en la comparación no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,168$ ). La ocupación más frecuente fue la de ama de casa, con una frecuencia de 19 pacientes en cada uno de los grupos, y sin diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,541$ ) (cuadro 1).

En cuanto a las variables clínicas, el estadio del tumor era avanzado en 3,8 % de las pacientes y era incipiente en 66,2 %. Entre las pacientes con el tumor en un estadio avanzado, el 25 % correspondía a la categoría IIB. Con relación al tipo de quimioterapia suministrada a las pacientes, la combinación de adriamicina y ciclofosfamida fue la más frecuente (22,5 %). La clasificación histopatológica más común fue la de carcinoma ductal infiltrativo, con 83,8 %. Los receptores de estrógenos y progesterona presentaron igual porcentaje de positivos y negativos (50 %). En cuanto a los marcadores tumorales, 56,2 % fue negativo para Her2, 96,2 % lo fue para el Brca, y 86,2 % lo fue para el índice Fish. El 8,8 % de las pacientes se clasificó clínicamente en el momento del diagnóstico. El valor más prevalente del índice de Karnofsky fue 90 %, con una frecuencia relativa de 76,3 %. Del 28,7 % que recibió tamoxifeno, un alto porcentaje tenía una percepción positiva de su calidad de vida (20 %) en comparación con aquellas cuya percepción era negativa (8,8 %). Además, en cuanto al tipo de quimioterapia administrada, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p<0,0001$ ) (cuadro 2).

**Cuadro 1.** Descripción y comparación de las variables sociodemográficas según la percepción de la calidad de vida con el cuestionario QLQ-BR23 en mujeres sobrevivientes de cáncer de mama sometidas a quimioterapia, Cali, 2017

Variable/Categoría*		Mala calidad de vida (n=40)		Buena calidad de vida (n=40)		p	Total	
		n	%	n	%		n	%
Estado marital	Casada	15	18,8	15	18,8	0,671	30	37,5
	Otro	4	5,0	5	6,3		9	11,3
	Soltera	10	12,5	8	10,0		18	22,5
	Unión libre	10	12,5	8	10,0		18	22,5
	Viuda	1	1,3	4	5,0		5	6,3
Estrato socioeconómico	1	4	5,0	4	5,0	0,598	8	10,0
	2	20	25,0	17	21,3		37	46,3
	3	12	15,0	9	11,3		21	26,3
	4	3	3,8	6	7,5		9	11,3
	5	1	1,3	3	3,8		4	5,0
	6	0	0,0	1	1,3		1	1,3
Escolaridad	Primaria	11	13,8	12	15,0	0,956	23	28,8
	Bachillerato	16	20,0	13	16,3		29	36,3
	Técnico	2	2,5	3	3,8		5	6,3
	Universidad	7	8,8	7	8,8		14	17,5
	Posgrado	4	5,0	5	6,3		9	11,3
Escolaridad completa	No	11	13,8	13	16,3	0,626	24	30,0
	Sí	29	36,3	27	33,8		56	70,0
Situación laboral	Activa	28	35,0	20	25,0	0,168	48	60,0
	Incapacitada	5	6,3	4	5,0		9	11,3
	Jubilada	1	1,3	1	1,3		2	2,5
	Otros	6	7,5	12	15,0		18	22,5
	Pensionada	0	0,0	3	3,8		3	3,8
Ocupación	Ama de casa	19	23,8	19	23,8	0,541	38	47,5
	No registra	0	0,0	2	2,5		2	2,5
	Trabajo formal	14	17,5	12	15,0		26	32,5
	Trabajo informal	7	8,8	7	8,8		14	17,5
<b>Cuantitativas</b>		<b>Mala calidad de vida</b>		<b>Buena calidad de vida</b>		<b>p</b>		
		<b>de vida</b>		<b>de vida</b>				
Edad (años) <sup>¶</sup>		52,7 ± 12,1		54,9 ± 12,4		0,430		
Número de hijos <sup>†</sup>		2 (0 - 4)		2 (0 - 4)		0,675		

\* Comparación de proporciones en la prueba de ji al cuadrado

¶ Media ± DE en la prueba t de Student de muestras independientes

† Mediana (RIC) en la prueba U de Mann-Whitney

Con relación a las variables relacionadas con la atención en salud, hubo diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes con una percepción negativa de su calidad de vida y el grupo de quienes tenían una percepción positiva, dependiendo del tipo de institución (pública o privada) donde eran atendidas ( $p=0,002$ ). Asimismo, el 67,5 % de las pacientes mencionaron haber pasado por cirugía, variable que tuvo una relación estadística con diferencias significativas ( $p=0,004$ ) entre los grupos de análisis. En cuanto a la afiliación al sistema de salud, el 63,8 % de las pacientes pertenecía al régimen contributivo y el 36,2 % al subsidiado ( $p=0,816$ ). Con relación a la acción de tutela, el 13,8 % había acudido a este mecanismo ( $p=0,330$ ). No había evidencia de antecedentes familiares en el 68,7 % ( $p=0,469$ ), en tanto que el 31,3 % tenía dichos antecedentes. La progresión de la enfermedad se reportó en 13,8 % de las pacientes del estudio ( $p=0,105$ ). El promedio en meses para el diagnóstico fue de  $11,9 \pm 6,7$  y  $18,7 \pm 28,21$  en las pacientes con mala y buena calidad de vida, respectivamente, lo que indica una gran variabilidad en dicho tiempo, sin evidenciarse diferencias significativas entre los grupos ( $p=0,1424$ ). En cuanto a la dosis formulada en miligramos, se obtuvo un promedio de  $7,1 \pm 9,6$  en las pacientes con mala calidad de vida y de  $1,1 \pm 4,4$  en aquellas con buena calidad de vida ( $p=0,0007$ ) (cuadro 3).



**Cuadro 2.** Descripción y comparación de las variables clínicas según la percepción de la calidad de vida con el cuestionario QLQ-BR23 en mujeres sobrevivientes de cáncer de mama sometidas a quimioterapia en Cali, 2017

Variable	Categoría*	Mala calidad de vida (n=40)		Buena calidad de vida (n=40)		p	Total	
		n	%	n	%		n	%
Estadio del tumor	Avanzado	16	20,0	11	13,8	0,237	27	33,8
	Inicial	24	30,0	29	36,2		53	66,2
Primer estadio	I	4	5,0	3	3,8	0,328	7	8,8
	IIA	6	7,5	13	16,3		19	23,8
	IIB	11	13,8	9	11,3		20	25,0
	IIIA	7	8,8	7	8,8		14	17,5
	IIIB	6	7,5	3	3,8		9	11,3
	IIIC	0	0,0	2	2,5		2	2,5
Tipo de quimioterapia administrada	IV	6	7,5	3	3,8	< 0,0001	9	11,3
	Adriamicina	5	6,3	13	16,3		18	22,5
	Doxorrubicina	0	0,0	16	20,0		16	20,0
	Taxol	9	11,3	4	5,0		13	16,3
	AC-TH	9	11,3	3	3,8		12	15,0
	Trastuzumab	9	11,3	1	1,3		10	12,5
	Paclitaxel	5	6,3	2	2,5		7	8,8
	Adyuvante TC	1	1,3	1	1,3		2	2,5
	Anastrozol	1	1,3	0	0,0		1	1,3
Clasificación histopatológica	FAC-Trastaza	1	1,3	0	0,0	0,615	1	1,3
	Adenocarcinoma	1	1,3	0	0,0		1	1,3
	Carcinoma ductal	32	40,0	34	42,5		66	82,5
Receptores de estrógeno y progesterona	Carcinoma lobular	7	8,8	6	7,5	0,655	13	16,3
	No	19	23,8	21	26,3		40	50,0
Marcador tumoral Her2	Sí	21	26,3	19	23,8	0,260	40	50,0
	Negativo	20	25,0	25	31,3		45	56,3
Marcador tumoral Brca	Positivo	20	25,0	15	18,8	0,077	35	43,8
	Negativo	37	46,3	40	50,0		77	96,3
Marcador tumoral Fish	Positivo	3	3,8	0	0,0	0,330	3	3,8
	Negativo	36	45,0	33	41,3		69	86,3
Recibe tamoxifeno	Positivo	4	5,0	7	8,8	0,026	11	13,8
	No	33	41,3	24	30,0		57	71,3
Clasificación clínica en el momento del diagnóstico	Sí	7	8,8	16	20,0	0,590	23	28,8
	I	4	5,0	3	3,8		7	8,8
	II	16	20,0	19	23,8		35	43,8
	III	15	18,8	14	17,5		29	36,3
	IV	5	6,3	2	2,5		7	8,8
	A	0	0,0	1	1,3		1	1,3
Índice de Karnofsky (%)	B	0	0,0	1	1,3	0,145	1	1,3
	70	0	0,0	1	1,3		1	1,3
	80	2	2,5	1	1,3		3	3,8
	90	27	33,8	34	42,5		61	76,3
	100	11	13,8	4	5,0	15	18,8	

\* Comparación de proporciones en la prueba de ji al cuadrado

En el QLQ-C30 se obtuvieron puntuaciones menores que en el QLQ-BR23 en cuanto a la presencia de síntomas. En general, las mujeres registraron como buena la valoración del estado global de salud (58,4) y la del impacto económico (60,3), lo que demostró su capacidad para continuar desempeñando las actividades en el hogar y en su trabajo. En lo relacionado con los síntomas, en el cuestionario QLQ-C30, se observó que el insomnio y la fatiga fueron los de mayor frecuencia, con puntajes de 58,4 y 58,0, respectivamente. En el área de funcionamiento, se obtuvo un puntaje de 44,1 para la función física. En el QLQ-BR23, el área de síntomas fue la más afectada: los efectos secundarios obtuvieron un puntaje de 60,2 y la pérdida de cabello, uno de 66,3. Con respecto a la escala de funcionamiento, el placer sexual fue el más afectado, con un valor de 32,5, siendo este un aspecto muy relevante para las participantes en el estudio (figura 1).

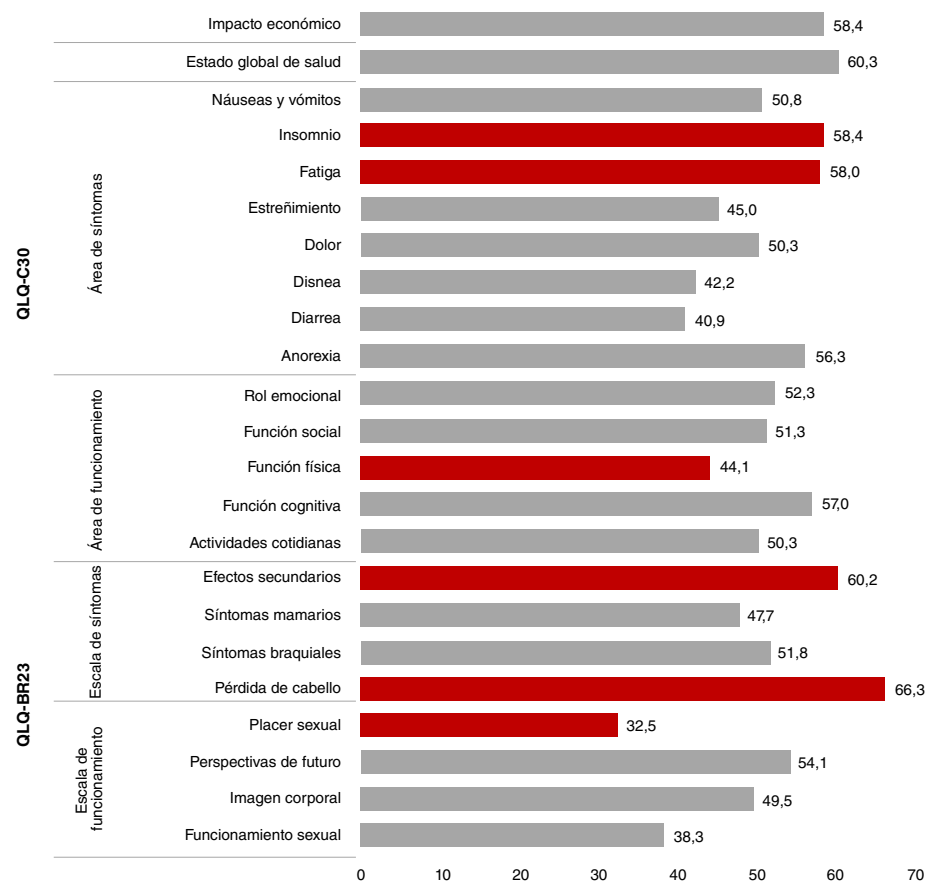
En el análisis multivariado se tuvieron en cuenta varios modelos y se incluyeron variables sociodemográficas, clínicas y las relacionadas con la atención en salud. Se establecieron como candidatas aquellas cuyos valores de probabilidad estuvieron por debajo de 0,25, de tal manera que estas se

**Cuadro 3.** Descripción y comparación de las variables relacionadas con la atención en salud según la percepción de la calidad de vida en el cuestionario QLQ-BR23 en mujeres sobrevivientes de cáncer de mama sometidas a quimioterapia en Cali, 2017

Variable	Categoría	Mala calidad de vida (n=40)		Buena calidad de vida (n=40)		p	Total	
		n	%	n	%		n	%
Institución	Privada	7	8,8	20	25,0	0,002	27	33,8
	Pública	33	41,3	20	25,0		53	66,2
Afilación a salud	Contributivo	25	31,3	26	32,5	0,816	51	63,8
	Subsidiado	15	18,8	14	17,5		29	36,2
Tutela	No	36	45,0	33	41,3	0,33	69	86,2
	Sí	4	5,0	7	8,8		11	13,8
Antecedentes familiares de cáncer de mama	No	29	36,3	26	32,5	0,469	55	68,8
	Sí	11	13,8	14	17,5		25	31,2
Progresión de la enfermedad	No	37	46,3	32	40,0	0,105	69	86,2
	Sí	3	3,8	8	10,0		11	13,8
Cirugía	No	7	8,8	19	23,8	0,004	26	32,5
	Sí	33	41,3	21	26,3		54	67,5
<b>Cuantitativas</b>		<b>Mala calidad de vida</b>		<b>Buena calidad de vida</b>		<b>p</b>		
		<b>de vida</b>		<b>de vida</b>				
Tiempo del diagnóstico (meses) <sup>µ</sup>		11,9 ± 6,7		18,7 ± 28,2		0,1424		
Dosis formulada (mg) <sup>µ</sup>		7,1 ± 9,6		1,1 ± 4,4		0,0007		

\* Comparación de proporciones en la prueba de ji al cuadrado

<sup>µ</sup> Media ± DE en la prueba de t de Student de muestras independientes



**Figura 1.** Distribución de los puntajes según el cuestionario y la dimensión en mujeres sobrevivientes de cáncer de mama sometidas a quimioterapia en Cali, 2017

**Cuadro 4.** Modelo explicativo de los factores asociados con la calidad de vida en pacientes sobrevivientes de cáncer de mama sometidas a quimioterapia en Cali, 2017

Variable	OR cruda (IC <sub>95%</sub> )	OR ajustada (IC <sub>95%</sub> )
Estado laboral	0,82 (0,63 – 1,06)	1,60 (0,53 - 4,75)
Estrato socioeconómico	0,74 (0,48 – 1,14)	7,20 (0,22 - 19,02)
Cirugía	4,27 (1,53 - 11,89)*	1,10 (0,70 - 8,62)
Recibe tamoxifeno	3,14 (1,12 – 8,82)*	0,30 (0,04 - 1,6)
Imagen corporal	2,40 (1,67 – 3,44)*	1,40 (0,84 - 11,07)
Función sexual	1,16 (0,77 – 1,75)	1,80 (1,23 - 11,83)*
Perspectivas para el futuro	3,63 (1,99 – 6,58)*	4,20 (1,13 - 17,78)*
Síntomas mamarios	1,92 (1,45 – 2,54)*	5,50 (1,24 - 24,81)*
Síntomas braquiales	2,50 (1,69 – 3,69)*	12,30 (0,53 - 28,5)
Pérdida del cabello	3,82 (2,12 – 6,86)*	0,40 (0,00 - 15,91)
Efectos secundarios	1,89 (1,42 – 2,51)*	7,30 (2,55 - 22,07)*

OR: *odds ratio*

\* Significativos: 0,05;

conservaron hasta culminar el proceso de modelación. Se encontró como modelo final para la calidad de vida relacionada con la salud en los pacientes con cáncer de mama que las dimensiones que más inciden en dicho deterioro son los efectos secundarios de la quimioterapia, la función sexual, los síntomas mamarios y la deficiente perspectiva de futuro después del ajuste (cuadro 4).

Después de ajustar a partir de los modelos de regresión logística, los aspectos que más afectaron la calidad de vida de las pacientes fueron la función sexual (OR ajustada=1,8; IC<sub>95%</sub> 1,2-11,8; p=0,027), las perspectivas para el futuro (OR ajustada=4,2; IC<sub>95%</sub> 1,1-17,8; p=0,045), los síntomas mamarios (OR ajustada=5,5; IC<sub>95%</sub> 1,2-24,8; p=0,038), y los efectos secundarios (OR ajustada=7,3; IC<sub>95%</sub> 2,6-22,1; p=0,012). Las intervenciones, por lo tanto, deben centrarse en estos factores.

## Discusión

Las mujeres participantes se vieron afectadas en las áreas de funcionamiento y de los síntomas. En cuanto a la dimensión relativa a la sexualidad en la percepción de la calidad de vida, se encontró que el 52,5 % tuvo una percepción negativa (p=0,032). Según el estudio de Coady, *et al.* (23), para el manejo de los problemas sexuales en pacientes con cáncer de mama debe comprenderse la fisiopatología del dolor sexual, el cual puede estar asociado con el tratamiento brindado a las pacientes. Estos tratamientos oncológicos pueden generar problemas en la respuesta sexual al afectar las emociones, el deseo sexual y los componentes centrales o periféricos del sistema nervioso, vascular pélvico y el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (23), aunque son más frecuentes cuando hay un conflicto marital. El diagnóstico del cáncer no produce trastornos en parejas felices, pero puede ocasionar conflictos y resultar en relaciones disfuncionales. Es de gran relevancia apreciar la vida en pareja y el apoyo de la familia de las mujeres con cáncer sometidas a quimioterapia (12), pues la sexualidad y la relación de pareja tienen un papel muy importante en el proceso de adaptación a la quimioterapia, puesto que esta altera la esfera cognitivo-afectiva y reduce la fortaleza física y la mental.

En relación con las perspectivas para el futuro, convivir con el cáncer de mama genera un estado de inseguridad que requiere de una actitud positiva para adaptarse y sobrevivir; dicha actitud pesa especialmente en la toma de decisiones, la predicción sobre el avance en su tratamiento, la tolerancia, el control, el estrés, la adaptación en su nueva forma de ver y vivir la vida, y la

incertidumbre que genera sobrevivir con una enfermedad crónica (23). En este sentido, es pertinente profundizar en esta área tan poco explorada desde la perspectiva del proceso de salud y enfermedad (25) teniendo en cuenta que, frente a una enfermedad tan grave como el cáncer, algunas personas la asumen como una oportunidad e, incluso, desarrollan una nueva y positiva perspectiva de vida. Hubo correlación entre los síntomas y la percepción de la calidad de vida ( $p=0,012$ ). En otro estudio, al evaluar cómo afectaba el tratamiento la calidad de vida de mujeres con diagnóstico de cáncer de mama, se encontró que el tratamiento mejoraba el funcionamiento físico (26).

En un estudio en Bogotá, los trastornos digestivos y alimentarios, la debilidad, el malestar general y las alteraciones en la integridad de la piel, fueron los síntomas más relacionados con la quimioterapia (27), lo que concuerda con los resultados del presente estudio, en el cual el vómito, el estreñimiento y el cansancio fueron los síntomas que más afectaron la calidad de vida de las pacientes. En diversos estudios se recomienda la interrupción del tratamiento como una buena práctica clínica cuando la paciente está en estado terminal (28), y en otros casos se sugieren intervenciones que minimicen los efectos adversos durante la quimioterapia (29,30), ya que, aunque su propósito es eliminar o reducir el volumen del tumor, el tratamiento con citotóxicos deteriora la salud de la paciente y causa náuseas, vómito, cansancio, anemia, pérdida temporal de cabello (alopecia) y un profundo impacto emocional (27).

También, se ha encontrado que el cáncer de mama y la quimioterapia reducen la calidad de vida desde el punto de vista socioeconómico de la familia, evidenciándose cómo aquellas mujeres de niveles socioeconómicos medio o alto y afiliadas al régimen contributivo de salud presentaron los mayores puntajes en la calidad de vida general en contraste con las de nivel socioeconómico bajo afiliadas al régimen subsidiado (31). En otro estudio, se determinó que la calidad de vida en mujeres con cáncer de mama en una provincia colombiana era mejor en aquellas afiliadas al régimen contributivo o que recibían apoyo de familiares o amigos, o provenían de un nivel socioeconómico alto (17). Se confirma así que un ambiente familiar y socioeconómico favorable mejora la calidad de vida de las mujeres en quimioterapia, pues facilita el cubrimiento de los gastos implícitos y mejora el acceso a los servicios de salud.

En el estudio de Vidal-Cazás (26) sobre la calidad de vida en pacientes con cáncer de mama en estadios iniciales y sometidas a tratamiento adyuvante, se encontró que el estado emocional varía durante el tratamiento. Es decir, hay una mayor preocupación al inicio debido a la incertidumbre sobre el estadio del tumor, el pronóstico y la posibilidad de un tratamiento efectivo.

El estado emocional de una paciente resulta de la suma de la calidad de vida previa y de su papel preponderante como madre, esposa y trabajadora, además de aquellas emociones y sentimientos que evolucionan durante el diagnóstico y el tratamiento, así como de los efectos adversos de la quimioterapia. Con base en las dimensiones de la calidad de vida que se ven afectadas, se deben implementar políticas y medidas tendientes a mejorar las condiciones de salud física y emocional de las pacientes. Los factores relacionados con la identidad sexual femenina (feminidad, maternidad, erotismo, papel social) pueden verse afectados de forma variable. Las mujeres con cáncer de mama enfrentan miedos y angustias que requieren un acompañamiento profesional y de la familia, para recuperar y mantener

su calidad de vida. El tratamiento del cáncer de mama genera un impacto negativo en la percepción de la calidad de vida de las mujeres, ocasionado principalmente por la reducción de su autoestima y por otras alteraciones en su salud física y mental.

Las limitaciones de este estudio se centran en el hecho de que no se pudo hacer un muestreo probabilístico, por lo que se invitó a participar a todas las mujeres con cáncer de mama que cumplían con los criterios de inclusión y que se presentaron durante el periodo de estudio, lo que puede considerarse como un sesgo de selección del estudio. En el análisis de los resultados, no se pudo establecer el efecto negativo del diagnóstico de cáncer de mamá en la calidad de vida porque no se contó con un grupo de control (mujeres sin diagnóstico de cáncer de mama), por lo que la comparación se hizo en torno a la percepción de la calidad de vida como variable principal del estudio, reconociendo que padecer una enfermedad como esta es un factor determinante en la calidad de vida relacionada con la salud. Tampoco se evaluó el efecto positivo o negativo de los círculos sociales de apoyo de las pacientes, lo que podría estar relacionado con la calidad de vida.

La mayoría de las mujeres presentan una importante disminución de su vida sexual desde el momento del diagnóstico de la enfermedad. Los principales efectos adversos de la quimioterapia, como la alopecia y la delgadez, así como la percepción negativa de la imagen corporal y la feminidad, son causa de la disminución de la calidad de vida. Se evidenció que las pacientes con una red de apoyo establecida reportaban una mejor calidad de vida al tener mejores relaciones interpersonales, más apoyo familiar y social, más afecto, y mejor resiliencia a los efectos del tratamiento. Los síntomas que más impactaban la calidad de vida fueron el dolor, la fatiga y el sueño, por la drástica restricción de la capacidad funcional de las personas y el estrés psicológico potenciado por las náuseas, el vómito, las alteraciones del funcionamiento sexual y la falta de acceso a los servicios de salud.

La valoración de la calidad de la vida es de gran provecho para brindar mejores cuidados y constituye una de las intervenciones más importantes en los pacientes oncológicos, aunada al aumento en la expectativa de supervivencia que ofrecen los nuevos tratamientos. Se recomienda estudiar el número de relaciones sexuales y el placer sexual en estas pacientes y ampliar el estudio para incluir el afrontamiento de su pareja y su familia, pues son elementos que afectan la calidad de vida. Se recomienda implementar un modelo de cuidado integral de la salud en mujeres con cáncer de mama en las instituciones.

### **Agradecimientos**

A las pacientes que aceptaron participar en el estudio, nuestro más fraternal agradecimiento y, a la Universidad del Valle, por apoyar esta iniciativa.

### **Referencias**

1. American Cancer Society. Acerca del cáncer de seno, ¿qué es el cáncer de seno?. ¿Qué es el cáncer de seno? Fecha de consulta: 14 de enero de 2019. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-seno/acerca/que-es-el-cancer-de-seno.html>
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
3. Instituto Nacional de Cancerología. Información de cáncer en Colombia. Conozca la incidencia y mortalidad de cáncer en Colombia. Fecha de consulta: 3 de febrero de 2019. Disponible en: <https://www.infocancer.co/portal/#!/home>

4. Universidad del Valle. Registro poblacional de cáncer de Cali, Colombia. Cáncer de mama. Fecha de consulta: 17 de febrero de 2019. Disponible en: [http://rpcc.univalle.edu.co/es/SitiosEspecificos/pdf-sitiosespecificos/Sitios\\_Especificos.php?sitio=9](http://rpcc.univalle.edu.co/es/SitiosEspecificos/pdf-sitiosespecificos/Sitios_Especificos.php?sitio=9)
5. Globocan. Mes de sensibilización sobre el cáncer de mama. WHO, 2016. Fecha de consulta: 22 de diciembre de 2018. Disponible en: [https://www.who.int/cancer/events/breast\\_cancer\\_month/es/](https://www.who.int/cancer/events/breast_cancer_month/es/)
6. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Cáncer de mama, 2016. Fecha de consulta: 10 de enero de 2019. Disponible en: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5041:2011-breast-cancer&Itemid=3639&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5041:2011-breast-cancer&Itemid=3639&lang=es)
7. Bravo LE, García LS, Collazos P, Carrascal E, Ramírez O, Collazos T, *et al.* Reliable information for cancer control in Cali, Colombia. *Colomb Med (Cali)*. 2018;49:23-34. <https://doi.org/10.25100/cm.v49i1.3689>
8. Moreno CB, Elles De Hoyos L, Montero L, Jhoselys D, Blanquicett P, Castillo IY. Conocimientos, actitudes y prácticas sobre el autoexamen de mama en mujeres del área rural de Cartagena 2015 (tesis). Cartagena: Universidad de Cartagena; 2015.
9. González-Robledo MC, Nigenda G. Formulación de políticas públicas sobre el cáncer de mama en América Latina. *Rev Panam Salud Pública*. 2013;33:183-9.
10. Vivar CG. Impacto psicosocial del cáncer de mama en la etapa de larga supervivencia: propuesta de un plan de cuidados integral para supervivientes. *Aten Primaria*. 2012;44:288-92. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2011.07.011>
11. Hernández L. La mujer con cáncer de mama: una experiencia desde la perspectiva del cuidado humano. *Enfermería Universitaria*. 2016;13:253-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.reu.2016.08.002>
12. Gómez CE, Sánchez LV, Enríquez JI. Experiencias de vida en mujeres con cáncer de mama en quimioterapia. *Revista Colombiana de Psiquiatría*. 2014;40:65-84. [https://doi.org/10.1016/S0034-7450\(14\)60105-0](https://doi.org/10.1016/S0034-7450(14)60105-0)
13. Giraldo-Mora CV. Persistencia de las representaciones sociales del cáncer de mama. *Rev Salud Pública (Bogotá)*. 2009;11:514-25.
14. Merino-Navarro D. Impacto del programa integrado de autocuidado específico en mujeres afectadas de cáncer de mama (tesis). Alicante: Universidad de Alicante; 2012.
15. Figueroa M del R, Valadez M de los D, Rivera ME, Montes R. Evaluación de la imagen corporal en mujeres con cáncer de mama: una revisión sistemática. *Universitas Psychologica*. 2017;16:1-12. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.upsy16-4.eicm>
16. Villar RR, Fernández SP, Garea CC, Pillado M, Barreiro VB, Martín CG. Quality of life and anxiety in women with breast cancer before and after treatment. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2017;25:e2958. <https://doi.org/10.1590/1518-8345.2258.2958>
17. Salas-Zapata C, Grisales-Romero H. Calidad de vida y factores asociados en mujeres con cáncer de mama en Antioquia, Colombia. *Rev Panam Salud Pública*. 2010;28.
18. Guillén-Ponce C, Molina-Garrido MJ. ¿Qué es, cómo funciona y tipos de quimioterapia? Fecha de consulta: 20 de diciembre de 2019. Disponible en: <https://seom.org/guia-actualizada-de-tratamientos/que-es-como-funciona-y-tipos-de-quimioterapia>
19. Peterson SJ, Bredow TS. *Middle range theories: Application to nursing research*. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health; 2013. p. 452.
20. Sánchez R, Venegas M, Otero J, Sánchez O. Adaptación transcultural de dos escalas para medir la calidad de vida en pacientes con cáncer en Colombia: EORTC QLQ-C30 y QLQ-BR23. *Revista Colombiana de Cancerología*. 2013;13:205-12. [https://doi.org/10.1016/S0123-9015\(09\)70119-2](https://doi.org/10.1016/S0123-9015(09)70119-2)
21. Arraras-Urdaniz JI, Juan J, Mañas I, Gutiérrez MT, García RV, Arteaga EP, *et al.* Quality of life in breast cancer patients assessed using the EORTC questionnaires. *Revista de Oncología*. 2001;3:100-6. <https://doi.org/10.1007/BF02711461>
22. Irrarázaval ME, Rodríguez PF, Fasce G, Silva FW, Waintrub H, Torres C, Marín L. Calidad de vida en cáncer de mama: validación del cuestionario BR23 en Chile. *Rev Med Chile*. 2013;141:723-34. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872013000600006>
23. Coady D, Kennedy V. Salud sexual en las mujeres afectadas por cáncer. *Obstet Gynecol*. 2016;128:775-91. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001621>

24. Taco A, Leni C. Calidad de vida, soporte social y autoeficacia para la adherencia al tratamiento en pacientes diagnosticadas con cáncer de mama (tesis). Lima: Universidad Femenina del Sagrado Corazón; 2018.
25. Apóstolo JL, Viveiros CS, Nunes HI, Domingues HR. Illness uncertainty and treatment motivation in type 2 diabetes patients. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2007;15:575-82. <https://doi.org/10.1590/S0104-11692007000400009>
26. Vidal-Cazás Y. Calidad de vida en pacientes diagnosticadas de cáncer de mama en estadios iniciales con tratamiento adyuvante. Coruña: Universidade da Coruña; 2014.
27. Lafaurie MM, Rodas LF, Silva Y, Soto NA, Ovalle ÁM, León L, *et al*. Mujeres con cáncer de seno: experiencias y significados. *Revista Colombiana de Enfermería*. 2011;7:12-21.
28. Bonastre PT, Teresa M, Bonastre T, Company ES, Lainosa DP. Chemotherapy near the end of life: Assessment of the clinical practice in onco-hematological adult patients. *Farm Hosp*. 2016;40:14-24. <https://doi.org/10.7399/fh.2016.40.1.8918>
29. Blasco T, Inglés N. Calidad de vida y adaptación a la enfermedad en pacientes de cáncer durante el tratamiento de quimioterapia. *Anuario de Psicología*. 1997;72:83-92.
30. Barrera M, Guerrero A. Mujeres afectadas por cáncer de mama. Recomendaciones para el seguimiento. *Rev Peru Ginecol Obstet*. 2017;63:35-51.
31. González-Pérez U, Alerm-González A, Jáuregui-Haza U. Calidad de vida en un grupo de mujeres cubanas con cáncer de mama. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 2008;7:1-10.

Original article

## Assessing the oncolytic potential of rotavirus on mouse myeloma cell line Sp2/0-Ag14

Rafael A. Guerrero<sup>1</sup>, Carlos A. Guerrero<sup>1</sup>, Fanny Guzmán<sup>2</sup>, Orlando Acosta<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Núcleo de Biotecnología Curauma, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile

**Introduction:** Cancer is the second leading cause of death in the United States, surpassed only by cardiovascular disease. However, cancer has now overtaken cardiovascular disease as the main cause of death in 12 countries in Western Europe. The burden of cancer is posing a major challenge to health care systems worldwide and demanding improvements in methods for cancer prevention, diagnosis, and treatment. Alternative and complementary strategies for orthodox surgery, radiotherapy, and chemotherapy need to be developed.

**Objective:** To determine the oncolytic potential of tumor cell-adapted rotavirus in terms of their ability to infect and lysate murine myeloma Sp2/0-Ag14 cells.

**Materials and methods:** We inoculated rotaviruses Wt1-5, WWM, TRUYO, ECwt-O, and WTEW in Sp2/0-Ag14 cells and we examined their infectious effects by immunocytochemistry, immunofluorescence, flow cytometry, and DNA fragmentation assays.

**Results:** Rotavirus infection involved the participation of some heat shock proteins, of protein disulfide isomerase (PDI), and integrin  $\beta 3$ . We detected the accumulation of viral antigens within the virus-inoculated cells and in the culture medium in all the rotavirus isolates examined. The rotavirus-induced cell death mechanism in Sp2/0-Ag14 cells involved changes in cell membrane permeability, chromatin condensation, and DNA fragmentation, which were compatible with cytotoxicity and apoptosis.

**Conclusions:** The ability of the rotavirus isolates Wt1-5, WWM, TRUYO, ECwt-O, and WTEW to infect and cause cell death of Sp2/0-Ag14 cells through mechanisms that are compatible with virus-induced apoptosis makes them potential candidates as oncolytic agents.

**Keywords:** Oncolytic viruses; rotavirus infections; neoplasms/therapy.

### Evaluación del potencial oncolítico del rotavirus en la línea celular Sp2/0-Ag14 de mieloma de ratón

**Introducción.** El cáncer es la segunda causa de muerte en los Estados Unidos, solamente superado por la enfermedad cardiovascular. Sin embargo, el cáncer aventaja a la enfermedad cardiovascular como primera causa de muerte en doce países de Europa occidental. Se requieren mejores métodos de prevención, diagnóstico y tratamiento para afrontar el gran desafío que el cáncer representa mundialmente para los sistemas de salud, y se necesita desarrollar estrategias alternativas y complementarias a la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia convencionales.

**Objetivo.** Evaluar el potencial oncolítico de rotavirus adaptados a células tumorales por su capacidad para infectar y lisar células Sp2/0-Ag14 de mieloma de ratón.

**Materiales and métodos.** Los aislamientos de rotavirus Wt1-5, WWM, TRUYO, ECwt-O y WTEW se inocularon en células Sp2/0-Ag14 y se examinaron sus efectos infecciosos mediante inmunocitoquímica, inmunofluorescencia, citometría de flujo y ensayos de fragmentación del ADN.

**Resultados.** La infección con los rotavirus Wt1-5, WWM, TRUYO, ECwt-O y WTEW implicó la participación de algunas proteínas de choque térmico, la proteína disulfuro isomerasa y la integrina  $\beta 3$ . La acumulación de antígenos virales intracelulares y extracelulares se detectó en todos los virus utilizados. Los mecanismos de muerte inducidos por los rotavirus en células Sp2/0-Ag14 indujeron cambios en la permeabilidad de la membrana celular, la condensación de cromatina y la fragmentación de ADN, los cuales fueron compatibles con citotoxicidad y apoptosis.

**Conclusiones.** La capacidad de los rotavirus estudiados para infectar y causar la muerte de células Sp2/0-Ag14 mediante mecanismos compatibles con la apoptosis inducida viralmente los convierte en candidatos potenciales para ser utilizados como agentes oncolíticos.

**Palabras clave:** virus oncolíticos; infecciones por rotavirus; neoplasias/terapia.

**Received:** 01/02/2019

**Accepted:** 30/01/2020

**Published:** 10/02/2020

#### Citation:

Guerrero RA, Guerrero CA, Guzmán F, Acosta O. Assessing the oncolytic potential of rotavirus on mouse myeloma cell line Sp2/0-Ag14. *Biomédica*. 2020;40:362-81.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.4916>

#### Corresponding author:

Carlos A. Guerrero, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 No 45-03, laboratorio 412, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (310) 316 1839  
caguerrero@unal.edu.co

#### Author contributions:

Rafael A. Guerrero conducted the experiments. Carlos A Guerrero coordinated and directed the research project. Fanny Guzmán synthesized the peptides linked to the heat shock proteins. Orlando Acosta codirected the project and drafted the English version of the manuscript.

#### Funding:

This work received financial support from the Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias, under Grant No. 110171250829, awarded to O. Acosta.

#### Conflicts of interest:

The authors declare no conflicts of interests.



Cancer is the second leading cause of death in the United States, surpassed only by cardiovascular disease (1). However, cancer has now overtaken cardiovascular disease as the main cause of death in twelve countries located in Western Europe (2). The burden of cancer is posing a major challenge to health-care systems worldwide and this demands an improvement of tools for cancer prevention, diagnosis, and treatment. Alternative and complementary strategies for orthodox surgery, radiation therapy, and chemotherapy need to be developed.

Advances in molecular biology research, including new information about tumoral cells, have a significant impact on the development of methods for treating cancer such as small interfering RNA (siRNA) (3), microRNA (miRNA) (4), cell signaling-based chemotherapy (5), and virotherapy (6), among others.

What we know about cell signaling pathways of tumoral cells suggests that tumor cell-lineage diversity converges into common molecular pathways regulating growth and differentiation while some atypical lineages behave in a unique way (7). However, tumors originating from the same cell type but different individuals can behave differently because they start from different genetic backgrounds and have a different evolution process (8). This heterogeneity suggests an individualized approach for the management of each tumor type (9,10).

In this context, viral oncolytic therapy as an anticancer strategy for the treatment of some tumors has been introduced to the extent that the knowledge about molecular mechanisms of carcinogenesis and virus infection has undergone significant progress (11,12). This therapy is based on viral particles that have been selected or genetically modified to proliferate specifically in tumor cells leading to their death (13). The oncolytic virus-based therapy promotes anti-tumor responses involving selective tumor cell killing and induction of systemic anti-tumor immunity (14).

Genetic mutations occurring in tumor cells make them more susceptible to oncolytic viruses whose tropism for these neoplastic cells depends on their transcription machinery and signaling pathways (15,16). The oncolytic virus entry into the tumor cell depends on the cell surface receptor-mediated binding of the virus to target cells before penetration. Since these receptors are absent in normal cells but over-expressed in some tumor cells, besides being oncolytic virus-specific, they allow oncolytic viruses to be an efficient and safe tool for cancer treatment.

Owing to the ability of oncolytic viruses for replicating within tumor cells, they exhibit unique pharmacokinetic characteristics that differentiate them from conventional cancer treatment. Oncolytic viruses can be genetically modified and redesigned relatively easily to introduce in their genome toxin-encoding genes that are harmful to tumor cells or genes encoding for immunostimulant products (17). However, there is no oncolytic virus or conventional therapeutic strategy good enough for treating all tumors since their tissues have complex biology where individual cells within the same tumor type can have different biochemistry (18,19).

It has been well documented that heat shock proteins (HSPs) are involved in several crucial events associated with tumor development including regulation of cell cycle progression (20-22), control of apoptotic pathways (22,23), and immune surveillance against cancer (24,25). Heat shock protein overexpression is observed in human, murine, and canine

neoplasms indicating that HSP play a role in carcinogenesis and metastasis of brain, lung, breast, and prostate cancers, as well as in sarcomas and some lymphomas (26). The expression of Hsc70 (27), PDI (28), integrin  $\beta 3$  (29), and several heat shock proteins has been associated with cell malignancy (26). Hsc70 (30) and PDI (31) are either expressed at very low levels or not at all on the cell surface of normal cells while tumor cells express them and several HSP at relatively high levels (32).

Several studies have shown rotavirus tropism in cells expressing Hsc70 (33), PDI (34), and integrins such as  $\alpha V\beta 3$  (35). Recently, it was described how some reassorted rotavirus isolates can successfully replicate in some tumor cell lines (36).

In the present study, we determined the oncolytic potential of rotaviruses using a model consisting of cultured murine myeloma cells. Our results demonstrate that the reassortant rotaviruses WTEW, Wt1-5, TRUY, and WWM, as well as ECwt-O, were able to successfully infect, replicate, encapsidate, and lyse murine myeloma Sp2/0-Ag14 cells. Rotavirus-induced changes in infected cells were compatible with toxicity and apoptosis. The results allowed suggesting that Hsp90, Hsp70, Hsc70, PDI, and integrin  $\beta 3$  participate during rotavirus entry into the target cell and that rotavirus infection results in expression changes of cellular proteins Hsp90, Hsp70, and Hsc70.

## Materials and methods

### Cell lines

Sp2/0-Ag14 cells (mouse B cell myeloma) were obtained from American Type Culture Collection™ (ATCC-CRL-1581). L929 cells (L cell, L-929, a derivative of strain L, ATCC1 CCL-1) were kindly donated by C. Parra of the *Facultad de Medicina* at *Universidad Nacional de Colombia*. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated from a human donor using Ficoll-Paque™.

The present study had prior approval of the Ethics Committee of the *Facultad de Medicina* at *Universidad Nacional de Colombia*.

All cell lines were cultured using Corning cell culture flasks (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) or RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) (Eurobio, Les Ulis, France) and 100  $\mu\text{g/ml}$  streptomycin and penicillin (Eurobio, Les Ulis, France).

All cells were cultured at 37 °C in a humidified atmosphere with 5%  $\text{CO}_2$ . The culture medium was changed every 3 days. To assess population doubling time, the culture medium was discarded and the cells washed 3 times with PBS containing 0.03% EDTA before incubation with PBS-EDTA containing trypsin (1  $\mu\text{g/ml}$ ) for 5 min at 37 °C. The detached cells were immediately dispersed in culture medium supplemented with FBS and subcultured in a new flask for estimating PDT.

### Antibodies and reagents

Goat antibodies against Hsp90 (SC-1055), Hsp70 (SC-1060), Hsp60 (SC-1052), Hsp40 (SC-1801), Hsc70 (SC-1059), integrin  $\beta 3$  (SC-6626), PDI (SC-17222), Cox-2 (SC-1747), and cleaved PARP-1 (SC-56196) were obtained from Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, CA, USA). Rabbit antibodies against NF- $\kappa\text{B}$  p65 (phospho S536) (ab86299) were purchased

from Cambridge Science Park (Cambridge, UK). Donkey anti-goat Alexa Fluor 594-conjugated secondary antibodies (SC-362275) and donkey anti-rabbit-Alexa Fluor 594-conjugated secondary antibodies (SC-362281) were obtained from Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, CA, USA). Donkey anti-goat or anti-rabbit antibodies conjugated with FITC (SC-362255 and SC-362261, respectively) or HRP (SC-2020 and SC-2313, respectively) were also obtained from Santa Cruz Biotechnology Inc. 7-aminoactinomycin D (7-AAD), propidium iodide, and 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) were purchased from Invitrogen (Carlsbad, CA, USA). Annexin V-Alexa 568 kit, Apoptotic DNA-Ladder Kit, In Situ Cell Death Detection kit, and poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) were obtained from Roche Laboratories, Inc. (Nutley, NJ, USA), and Hoechst 33342 from Thermo Scientific (Waltham, MA, USA).

### ***Rotavirus isolates***

Rotavirus isolates Wt1-5, WWM, TRUYO, ECwt-O, and WTEW, selected as previously reported (36), were trypsin-activated (10 mg/ml) and separately inoculated (MOI of 2) in Sp2/0-Ag14 cells ( $1 \times 10^7$ ) in DMEM (10 ml) without FBS. The cells were cultured at 37 °C until their lysis (about 24 h). The infection cycle was repeated four times in new cells and subsequent infections were performed with virus isolates without trypsin treatment.

### ***Synthetic peptides***

Synthetic peptides derived from HSP were prepared using a solid-phase method as previously described (37). The peptide sequences were as follows: Hsp90 (620-RDNSTMGYMAAKKHLEINPDHS-641); Hsp70 (374) (705-QIQQYMKIISSFKNKEDQYDHL-727); Hsp70 (375) (646-NSFTLKLEDTENWLYEDGDQPKQ-668); Hsp70 (376) (741-AMEWMNNKLNQNKQSLTMDP-761); Hsp60 (393-RLAKLSDGVAVLKVGGTSDVEVN-415); Hsp40 (251-GSDVIYPARISLREALCGCTVNV-273).

### ***Antisera preparation***

New Zealand rabbits were subcutaneously immunized with 1 ml of a Freund's complete adjuvant emulsion containing the respective specific HSP peptides (0.5 mg/ml) mixed with FIS (FISEAIIHVLHSR) peptide (0.5 mg/ml) as an immunomodulatory agent (38). The same amount of each antigen emulsified in Freund's incomplete adjuvant was inoculated to rabbits 20 and 40 days later. Bleeding of rabbits was performed on day 60 after the first injection. Sera containing sodium azide (0.04%) and diluted two-fold with glycerol were kept at -20 °C until use. Control pre-immune sera were collected before immunization.

All procedures involving rabbits were performed according to the Ethics Committee's approval.

### ***Cell infection***

The culture medium was removed from cells (Sp2/0-Ag14, L929 or PBMCs) and DMEM without FBS was added to wash twice the cells. Sp2/0-Ag14 cells ( $1.5 \times 10^6$ ) were incubated in DMEM without FBS (1.0 ml) in 12-well plastic plates at 37 °C with 5% CO<sub>2</sub> and then separately infected with cesium chloride-purified isolates Wt1-5, ECwt-O, TRUYO, WWM, or WTEW at an MOI of 0.8 each (39).

Cells were harvested at 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 24 hpi and fixed with 4% paraformaldehyde in PBS for 30 min at room temperature. In the case of non-tumoral cells L929 and PBMCs, increasing MOIs (0.5, 1, 1.5, 2, 3, and 6) were tested. The fixed cells were washed twice with PBS for 5 min each wash and resuspended in PBS containing 0.02% sodium azide before storing at 4 °C until use. Infection was assessed by immunocytochemistry as indicated below.

The effect of antibodies against HSP, PDI, and integrin  $\beta 3$  on rotavirus infection was tested by incubation of Sp2/0-Ag14 cells with hyperimmune antiserum against Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40, Hsc70, PDI, or integrin  $\beta 3$  diluted (1:25, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 or 1:800) in PBS containing 1% BSA. The antisera were generated in rabbits that had been immunized with human synthetic peptides derived from active sites of Hsp90, Hsp70, Hsp60, and Hsp40, or complete rHsc70 (40) and integrin  $\beta 3$  isolated from platelets.

Cells were incubated for 1 h at 37 °C, washed 3 times with PBS, placed on ice for 15 min, and then inoculated with rotavirus isolates (MOI of 0.8) and incubated for 45 min at 4 °C. The cells were further incubated at 37 °C for 12 h and subjected to immunocytochemistry assay for the detection of rotavirus structural antigens. The percentage of infection was determined in the absence of antibody treatment. Cells treated with the unrelated antibodies against potato virus Y (Agdia AUG96 Lot # 0427) and then infected with rotavirus isolates were used as a control. Hyperimmune antisera were tested for the absence of anti-rotavirus antibodies using immunofluorescence, Western blotting, and ELISA.

### ***Immunocytochemistry***

Fixed Sp2/0-Ag14 cells were applied onto coverslips previously washed with xylol, dried at 50 °C for about 30 min, and slightly flamed. The cells were permeabilized with 0.5% Triton X-100 for 5 min at RT and washed twice with PBS for 5 min each. Rabbit antibodies (1:2,000) against rotavirus structural proteins (triple layer particles) and non-structural proteins (recombinant versions of NSP-4 and NSP-5) were added and incubated for 1 h at 37 °C. After washing twice with PBS, donkey anti-rabbit HRP-conjugated secondary antibody (0.133  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) was added and incubated for 1 h at 37 °C. After washing with PBS twice, the reaction was visualized with 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) (0.64 mg/ml) in 50 mM sodium acetate buffer, pH 5.5, containing 0.03%  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Rotavirus-infected Sp2/0-Ag14 cells treated with unrelated isotype-matched antibodies and non-infected Sp2/0-Ag14 cells were used as a control. The percentage of viral antigen-positive cells was determined and representative photographs were taken. The viral titer was estimated from the number of rotavirus-positive cells after 12 hpi taking into account the serial dilutions of the concentrated viral stock.

### ***Immunofluorescence***

An immunofluorescence assay was conducted to assess expression changes for Hsp40, HSP60, HSP70, HSP90, Hsc70, integrin  $\beta 3$ , and PDI. Cells were infected with Wt1-5, ECwt-O, TRUYO, WWM, or WTEW as indicated above. Cells were fixed, dried, and permeabilized as indicated for immunocytochemistry. Cells were treated with 50 mM  $\text{NH}_4\text{Cl}$  and 100 mM glycine in PBS for 30 min at RT to quench auto-immunofluorescence. Cells were stained with DAPI (0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) for 30 min in a dark humid chamber at 37 °C and then washed twice with PBS for 5 min each time.

Cells were incubated with goat antibodies (0.2 µg/ml in PBS containing 1% BSA) against HSP40, HSP60, HSP70, HSP90, Hsc70, integrin β3, or PDI for 1 h in a dark humid chamber at 37 °C. After two washes with PBS, donkey anti-goat antibodies conjugated to Alexa Fluor 568 (5.7 µg/ml) in 1% BSA in PBS were added and maintained for 1 h in a dark humid chamber at 37 °C. Coverslips were washed twice with PBS and mounted inverted on glass microscope slides using 70% glycerol in PBS and resin. Non-infected cells subjected to the same procedures were used as a control.

### **Flow cytometry and epifluorescence**

Expression of Hsp40, HSP60, HSP70, HSP90, Hsc70, integrin β3, and PDI “on cell surface” was assessed by flow cytometry and epifluorescence. Cells at the logarithmic growth phase were collected, fixed with 4% glutaraldehyde, and washed twice with PBS before the addition of goat antibodies (0.2 µg/ml) to Hsp40, HSP60, HSP70, HSP90, Hsc70, integrin β3, or PDI. Alternatively, rabbit hyperimmune antisera (1:2,000) raised against synthetic peptides (20 aa) spanning the active site of HSP40, HSP60, HSP70, and HSP90, or against a recombinant version of complete Hsc70 and PDI, or integrin β3 purified from platelets, were also used as primary antibodies.

Following incubation for 1 h at 37 °C, cells were washed 3 times with PBS and incubated with secondary donkey anti-goat or anti-rabbit antibodies conjugated to FITC (0.88 µg/ml) in PBS containing 1% BSA. Cell analysis was performed using a Becton Dickinson FACS Canto II™ flow cytometer. Cells were also analyzed by epifluorescence using a Nikon C1 Eclipse™ confocal laser microscope equipped with the Acquisition Software Nikon EZ-C1™, version 3.90.

### **Cytotoxic, genotoxic, and apoptotic effects**

To determine cell viability following virus infection, cells collected at the logarithmic phase of growth were tested for their viability using the trypan blue exclusion test. Cells were then infected with rotavirus isolates Wt1-5, ECwt-O, TRUYO, WWM, or WTEW at MOI of 0.8 and cell viability recorded at 0, 2, 4, 8, 12, and 24 h after virus infection. Viability of L-929 cell monolayers was observed in an inverted microscope (Euromex) whereas that of Sp2/O-Ag14 cell suspensions was observed using a Neubauer chamber and a conventional microscope.

Genotoxic damage induced by rotavirus infection was assessed by the detection of poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) as indicative of the repair process of fragmented DNA. Procedures were conducted following the manufacturer’s instructions. Briefly, cells fixed on coverslips were washed twice with PBS-T (PBS containing 1% BSA and 1% Tween 20) before the addition of cleaved PARP-1 antibody (194C1439) (0.2 µg/ml, SC 56196) in PBS-T and incubation for 1 h at RT. Cells were washed twice with PBS-T and incubated with goat anti-mouse IgG conjugated to FITC (0.88 µg/ml) for 30 min at 4 °C. Coverslips were washed twice with PBS and mounted inverted onto glass slides using glycerol and resin as indicated above.

*In situ* DNA fragmentation in Sp2/O-Ag14-Ag14 cells separately infected (MOI of 0.8) with the different rotavirus isolates indicated above was also assessed using TUNEL assay (Invitrogen). Infected cells ( $1.5 \times 10^6$ ) were harvested after 12 h incubation at 37 °C and fixed with 4% of paraformaldehyde in PBS, pH 7.4, freshly prepared. The samples were

washed 3 times in PBS and adjusted to  $2 \times 10^7$  cells/ml. The cells were resuspended in 100  $\mu$ l/well of permeabilization solution (0.1% Triton X-100 in 0.1% sodium citrate, pH 7.0, freshly prepared) for 2 min on ice (2-8 °C) and then rinsed twice with PBS. The cells were placed onto coverslips and dried at 50 °C for 1 h before adding 50  $\mu$ l of TUNEL reaction mixture. The coverslips were incubated in a humidified atmosphere for 60 min at 37 °C in the dark. After this incubation, the cells were rinsed three times with PBS. The samples were observed directly under a fluorescence microscope using an excitation wavelength in the range of 450-500 nm. Emission was recorded in the range of 515-565 nm. Non-infected and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated cells were used as control.

Early apoptotic signals were assessed in Sp2/0-Ag14 cells that had separately been infected with the different rotavirus isolates (MOI of 0.8). Non-infected or H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated cells were used as control. After 12 h of culture, cells ( $1 \times 10^6$ ) were harvested and washed twice with PBS before suspension and incubation for 15 min at RT in 100 ml HEPES buffer, pH 7.4, containing 140 mM NaCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, and Annexin V-Alexa Fluor 568™ (Roche) (20  $\mu$ l/ml). Cellular membrane integrity was tested for its permeability to 7-AAD in rotavirus infected cells (MOI of 0.8) that had been incubated for 12 h at 37 °C. Cells ( $1 \times 10^6$ ) were washed twice with PBS, collected by centrifugation (600g), and suspended in 1ml PBS containing 0.3 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.3 mM MgCl<sub>2</sub>, 2% BSA, and 1 mg/ml 7-AAD for 20 min at 4 °C in the darkness. Cells were washed twice with PBS before observation using a fluorescence microscope.

Apoptotic effects in terms of nuclear condensation and fragmentation were estimated using Hoechst 33342/propidium iodide staining. After infection with rotavirus isolates, cells were collected at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, and 36 hpi, fixed with 4% paraformaldehyde, and washed twice with PBS. Cells ( $1 \times 10^6$ ) were suspended in PBS (100  $\mu$ l) containing 0.02% sodium azide 0.25  $\mu$ g/ml (Hoechst), 0.20  $\mu$ g/ml and propidium iodide for 10 min at room temperature. Coverslips were washed twice with PBS and mounted inverted onto glass slides using glycerol and resin as indicated above.

Apoptotic effects were further analyzed using Apoptotic DNA-Ladder Kit™ (Roche) and following the manufacturer's instructions. Briefly, cells ( $1 \times 10^7$ ) were infected with rotavirus isolates at a MOI of 2 and incubated for 12 h at 37 °C; they were then harvested and added with 0.5 mM PMSF before storage at -20 °C. Cells ( $2 \times 10^6$ ) in PBS (200  $\mu$ l) were mixed with lysis buffer (200  $\mu$ l) (6 M guanidine-HCl, 10 mM urea, 10 mM Tris-HCl, pH 4.4, 20% Triton X-100) for 10 min at RT. DNA was eluted twice from the filter using preheated (70 °C) elution buffer (200  $\mu$ l) (10 mM Tris-HCl, pH 8.5). After elution buffer addition, the filter tube was centrifuged at 6.200g for 1 min and the eluted DNA stored at -20 °C.

DNA quantity and purity were assessed using a NanoDrop 2000c (Thermo Scientific). DNA from non-infected cells was used as a negative control. Cells treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were used as a positive control. DNA samples were analyzed by electrophoresis on a 1% agarose gel at 5 V/cm for 1.5 h. Gels were stained with SYBR-Safe DNA gel stain™ (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) diluted 1:10.000 in TBE buffer (89 mM tris-borate, pH 8.3, and 2 mM EDTA), visualized with UV excitation, and photographed using a 10-megapixel Canon camera™.

All fluorescence analyses were conducted using a Nikon C1 confocal laser scanning microscope. Images were captured using EZ-C1 Nikon software. DAPI staining was visualized using laser excitation at 408 nm and detection at 450/35 nm. Fluorescence from Alexa Fluor 568 was observed using laser

excitation at 543 nm and detection at 605/75 nm. Images were analyzed using the ImageJ 1.44p Java 1.6.0\_20 (32-bit) software.

### **ELISA**

ELISA analyses were conducted as previously described (36). Briefly, Sp2/O-Ag14 cells were separately infected with the rotavirus isolates described above. Infected cells were harvested after incubation for 12 h at 37 °C and collected by centrifugation at 600g for 5 min. The supernatant was added with RIPA buffer (150 mM NaCl, 1% NP-40, 0.5% DOC, 0.1% SDS, 50 mM Tris-HCl, pH 8.0, final concentrations) and centrifuged at 10,000g for 10 min at 4 °C. The resultant supernatant was applied to ELISA plate wells coated with guinea pig polyclonal antibodies against rotavirus structural proteins and incubated for 1 h at 37 °C.

Plates were washed three times with washing buffer (PBS-T) (PBS containing 0.05% Tween 20) and incubated with rabbit polyclonal antibodies against rotavirus structural proteins. After PBS-T washing three times, plate wells were added with HRP-conjugated goat anti-rabbit IgG (0.08 µg/ml, Santa Cruz SC-2313) and incubated for 1 h at 37 °C. The reaction was revealed with OPD (o-phenylenediamine dihydrochloride) diluted in stable peroxide substrate buffer. Purified ECwt-O particles were used as a positive control whereas supernatants from non-infected cells were used as a negative control. ELISA plates were read at 492 nm on an FLx800 Multi-Detection microplate reader™ (Biotek) and the results were expressed as delta optical density (OD).

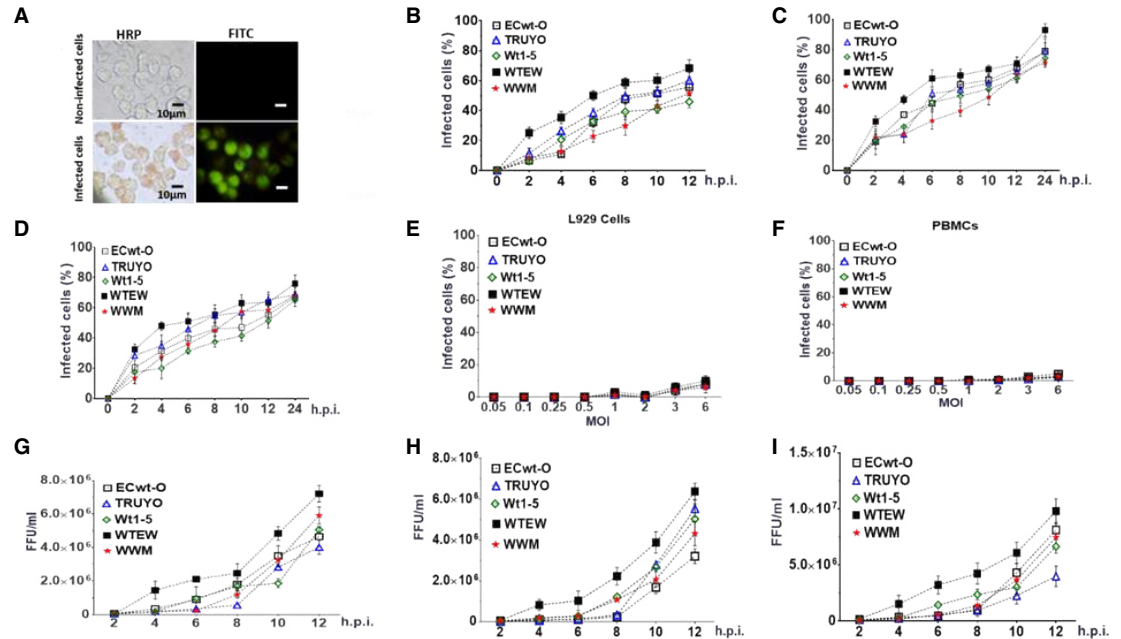
### **Results**

#### ***Rotavirus infection of Sp2/O-Ag14 cells***

Previous experiments demonstrated that after multiple passages in human tumor cell lines, tumor cell-adapted rotavirus isolates can be obtained (36). Rotavirus isolates TRUYO, WWM, and WTEW derived from different combinations of parental rotavirus strains, isolate Wt1-5 derived from a combination of several patient-derived rotavirus isolates, and multiple-passaged murine ECwt-O were able to successfully infect several human tumor cell lines (36). To gain further insight into the viral life cycle leading to tumor cell death, we used human tumor cell line Sp2/O-Ag14.

Stock preparations of the rotavirus isolates Wt1-5, ECwt-O, TRUYO, WWM, or WTEW were diluted with MEM to reach inocula that were able to infect about 50% (approximately 0.8 MOI) of the Sp2/O-Ag14 cells according to the immunochemistry and immunofluorescence images obtained after 12 hpi at 37 °C (figure 1A). When the separately infected cells were tested every 2 hpi for the appearance of viral antigens, positive signals for these antigens were detected by immunochemistry assay as early as 2 hpi.

However, a progressive increase in the proportion of cells being positive to viral antigen was observed between 2 and 12 hpi. At the end of this period, the mean percentage of cells showing viral antigens was about 59%. The percentage of infected cells was determined in terms of structural (figure 1B) and non-structural proteins NSP4 (figure 1C) and NSP5 (figure 1D). Assays of infection with the same rotavirus isolates (MOI of 0.5, 1, 1.5, 2, 3, and 6) using non-tumor cells L929 (figure 1E) and human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) (figure 1F) showed negative results for viral antigens assessed by immunochemistry assay.



**Figure 1.** Infection of Sp2/0-Ag14 cells by rotavirus isolates and infectious virions present in supernatant from the culture medium. Sp2/0-Ag cells at the logarithmic growth phase were separately infected with previously trypsin-activated rotavirus isolates WTEW, WWM, Wt1-5, TRUYO, or ECwt-O at 0.8 MOI each. **A.** HRP immunochemistry staining of rotavirus structural antigens (reddish) at 12 hpi followed by FITC fluorescent staining (green). **B.** Sp2/0-Ag cells were separately infected with the rotavirus isolates mentioned above and cell aliquots taken at the indicated post-infection times. Infection was recorded as the percentage of cells being positive to rotavirus structural antigens using HRP immunochemistry assay. **C.** As in B, except that cells being positive to nonstructural antigen NSP 4 were recorded. **D.** As in B, except that cells being positive to non-structural antigen NSP5 were recorded. **E.** Control non-tumoral L929 cells were separately infected with the rotavirus isolates indicated above using increasing MOI. Infection is expressed as the percentage of cells being positive to rotavirus structural antigens at 12 hpi using HRP immunochemistry assay. **F.** As in E, except that control cells consisting of non-tumoral PBMCs were used instead of L926 cells. **G.** Sp2/0-Ag cells were infected as described in A and then aliquots of cells were collected every 2 h after infection with the indicated rotavirus isolates and subjected to centrifugation at 700g. The supernatant medium was collected and used to inoculate a fresh batch of Sp2/0-Ag cells, which were collected at 12 hpi and lysed; the infectious titers (FFU/ml) of lysates were determined by immunochemistry assay for the viral structural antigens. **H.** As in G, except that the non-structural antigen NSP4 was determined. **I.** As in G, except that the non-structural antigen NSP5 was determined. Infection is expressed as mean percentage  $\pm$  SD from three independent experiments ( $n=3$ ), each performed in duplicate.

To assess the presence of extracellular viral antigens released into the culture medium, the 600g supernatant of Sp2/0-Ag14 cells that had been separately infected with rotavirus isolates Wt1-5, ECwt-O, TRUYO, WWM, or WTEW was tested for the presence of viral antigens using ELISA. The results showed that the infection produced viral antigens that were released into the culture medium and were easily detectable at 12 hpi for all the rotavirus isolates tested (data not shown).

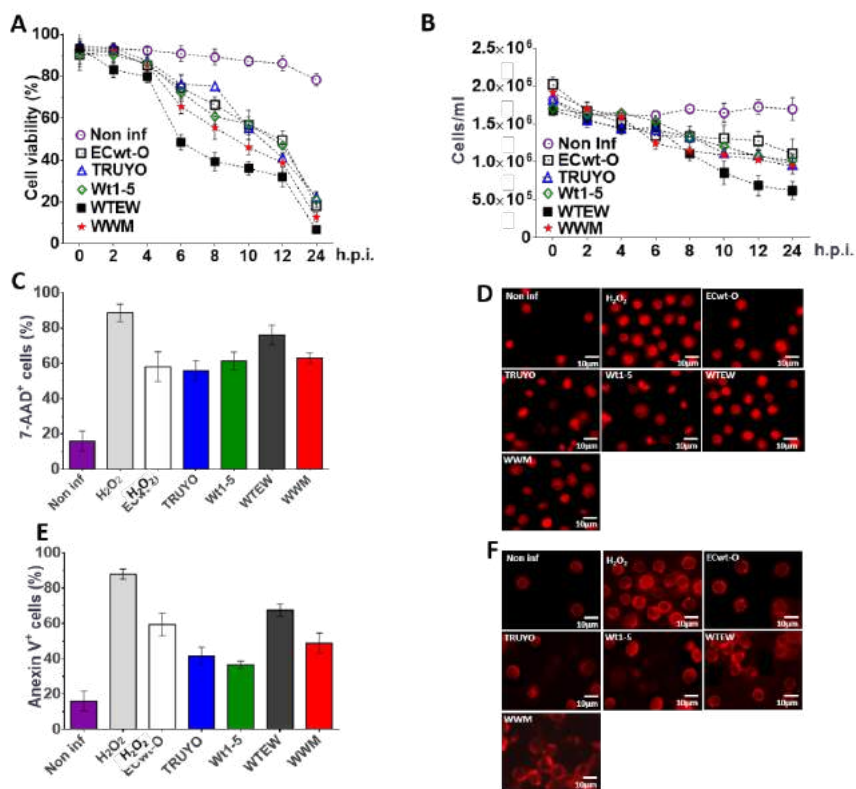
To determine whether the virus inoculated was able to replicate and produce new mature and infectious virions, Sp2/0-Ag14 cells were separately infected with the same rotavirus isolates (MOI of 0.8). Lysates from infected cells taken every 2 hpi were able to successfully infect fresh cells as judged by the detection of rotavirus structural antigens (figure 1G) and non-structural antigens NSP4 (figure 1H) and NSP5 (figure 1I) by immunochemistry assay at 12 hpi. The results showed that all the rotavirus isolates studied generated infectious virions which were easily detected for their infectious capacity first at 4 hpi for WTEW and WT1-5, at 6 hpi for WWM and ECwt-O, and at 8 hpi for TRUYO (figure1G-I).



### Effects of rotavirus infection on cell viability and membrane integrity

To determine the effects of rotavirus infection on cell viability and integrity of the cell membrane, Sp2/0-Ag14 cells were separately infected with the rotavirus isolates WT1-5, ECwt-O, TRUYO, WWM, or WTEW (MOI of 0.8). The results obtained by testing cells every 2 hpi until 12 hpi for their ability to exclude trypan blue revealed that cell viability started to decrease continuously from 6 hpi until reaching its lowest value (20%) at 12 hpi. In addition, the proportion of cells remaining viable at 24 hpi was less than 3% (figure 2A) when the percentage of observable cells was reduced to 45 to 50% compared with the number of control cells at 0 hpi (figure 2B). These results suggest that the decreased number of cells was caused by rotavirus-induced lysis of infected cells.

The exclusion test using 7-AAD, a membrane impermeant dye, confirmed that rotavirus-infected cells lost their ability to exclude this DNA-intercalating agent as 56 to 76% of infected cells depending on the virus isolated used



**Figure 2.** Effects of rotavirus infection on cell viability, membrane integrity, and nuclear morphology. Sp2/0-Ag cells at the logarithmic growth phase were separately infected with previously trypsin-activated rotavirus isolates WTEW, WWM, Wt1-5, TRUYO, or ECwt-O at 0.8 MOI each. Non-infected Sp2/0-Ag cells and 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated Sp2/0-Ag cells were used as a control. **A.** The viability of cells collected at the indicated post-infection time was determined using the trypan blue exclusion test. **B.** The total number of the cells/ml remaining at the indicated post-infection times was determined using a Neubauer chamber. **C.** SP2/0-Ag cells infected with the indicated rotavirus isolates were stained with 7-AAD at 12 hpi. The percentage of cells being positive to 7-AAD fluorescence was determined for the rotavirus isolates indicated. **D.** Representative images of 7-AAD-stained cells at 12 hpi are shown. **E.** SP2/0-Ag cells infected with the indicated rotavirus isolates were stained with annexin V at 12 hpi. The percentage of cells being positive to annexin V was determined for each rotavirus isolate tested. **F.** Representative images of Annexin V-stained cells at 12 hpi are shown. Images were taken with a confocal microscope (Nikon-C1) and analyzed using the EZ-C1, ver. 3.90, software. Results are shown as mean percentages ± SD from two independent experiments performed in duplicate.

showed fluorescent signals at 12 hpi. About 18% of non-infected control cells were positive to the 7-AAD test while about 90% of the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated cells were found to be positive for this test (figure 2C). The pattern of fluorescent signals in infected cells was similar to that of control cells treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> except that fluorescence intensity was higher in infected cells. Changes in nuclear morphology such as nuclear fragmentation and nuclear condensation were also observed (figure 2D). These results suggest that the rotavirus infection induced changes in cell membrane permeability of Sp2/0-Ag14 cells.

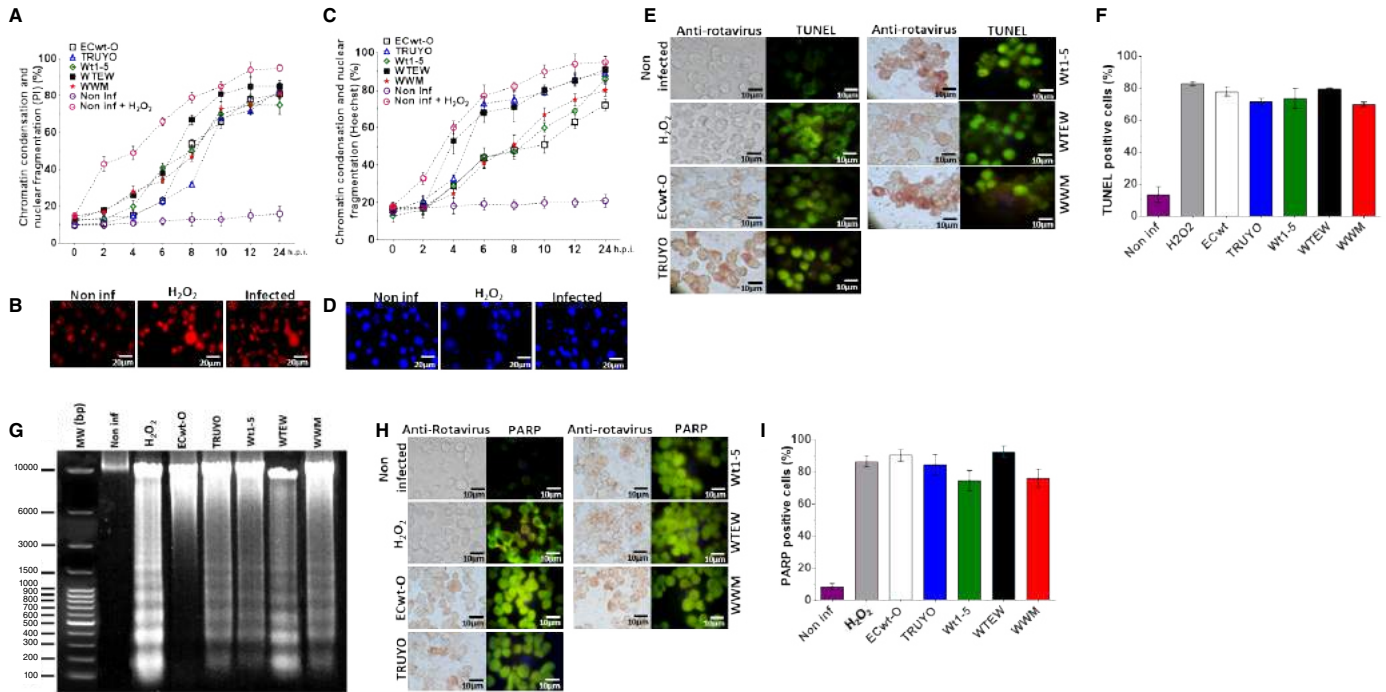
To further study the changes induced in the cell membrane by rotavirus infection, annexin V conjugated to Alexa Fluor 568 was used for the detection of phosphatidylserine externalization to the plasma membrane, an early apoptotic signal. Sp2/0-Ag14 cells were separately infected with the 5 rotavirus isolates indicated above using a MOI of 0.8. After 12 hpi, cells were found to be positive to annexin V fluorescence signals at percentages of 67.5%, 59.5%, 49%, 41.5%, and 36.5 % for rotavirus isolates WTEW, ECwt-O, WWM, TRUYO, and Wt1-5, respectively (figure 2E). The fluorescence pattern of rotavirus-infected cells was similar to that exhibited by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated cells, except that a higher percentage of fluorescent cells were observed in the control counterpart (figure 2F). These images suggest that rotavirus infection can induce apoptotic signals in Sp2/0-Ag14 cells.

### ***Genotoxic and apoptotic effects induced by rotavirus infection***

To investigate further apoptotic signals induced by rotavirus infection in Sp2/0-Ag14 cells, assays for testing DNA changes after infection were conducted using Hoechst or propidium iodide staining. The results showed that infected cells examined every 2 h until 24 hpi underwent progressive chromatin condensation and nuclear fragmentation throughout the period examined. In cells assayed with propidium iodide, signals of chromatin condensation and nuclear fragmentation were observed from 6 hpi and were detected in 20 to 40% of the cells, where higher percentages corresponded to cells infected with rotavirus isolates WTEW, WWM, and Wt1-5. After 10 hpi, the percentages of cells showing chromatin condensation and nuclear fragmentation reached 75 to 80% for all rotavirus isolates tested (figure 3A).

Staining assays using propidium iodide showed both chromatin condensation and nuclear fragmentation in rotavirus infected cells and in positive control cells that had been treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. In contrast, these signals were absent in non-infected control cells (figure 3B). These results were confirmed after Hoechst staining (figure 3D). Representative images in figure 3B and 3D are from assays with the isolate WTEW recorded at 24 hpi.

In assays conducted using Hoechst, chromatin condensation and nuclear fragmentation were observed at 24 hpi in 90%, 88%, 82%, 78%, and 70% of cells infected with rotavirus isolates WTEW, TRUYO, WT1-5, WWM, and ECwt, respectively (figure 3C). In assays conducted with Hoechst, chromatin condensation and nuclear fragmentation affecting 18 to 32% of the cells were visualized from 4 hpi. At this time, slightly higher percentages of chromatin condensation and nuclear fragmentation were observed in cells infected with rotavirus isolates WTEW, WWM, and Wt1-5. The proportion of cells exhibiting chromatin condensation and nuclear fragmentation was increased from 6 hpi. for WTEW and TRUYO-infected cells reaching their highest percentages (75% and 88%, respectively) after 10 hpi. The percentages of cells showing chromatin condensation and nuclear fragmentation for the remaining rotavirus isolates tested also increased from 6 hpi, except that their percentages were



**Figure 3.** Genotoxic and apoptotic effects induced by rotavirus infection. Sp2/0-Ag14 cells were separately infected with rotavirus isolates ECwt-O, TRUYO, Wt1-5, WTEW, or WWM at MOI 0.8 each. Non-infected and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated cells were used as negative and positive controls, respectively. A. Cell aliquots were harvested at the indicated times, stained with PI, and analyzed by epifluorescence microscopy. The percentages of cells showing chromatin condensation and nuclear fragmentation are indicated. B. Representative images of PI staining at 12 hpi from the cells analyzed in A. C. Cells were analyzed in terms of percentages as indicated in A, except that they were stained with Hoechst. D. Representative images of cells at 12 hpi exhibiting chromatin condensation and nuclear fragmentation. E. Cells at 12 hpi were tested for rotavirus structural antigen and DNA fragmentation (TUNEL labeling). Representative images are shown. F. Mean percentages of TUNEL positive cells are shown for each virus isolate tested in C. G. DNA fragmentation assay in agarose gel (1%) stained with SyBR Safe DNA™ gel stain is shown for cells infected with each virus isolate at 12 hpi. H. Representative images of cells showing rotavirus structural proteins in immunocytochemistry assay and PARP-1 expression in immunofluorescence assay at 12 hpi are shown for the virus isolates indicated. I. The mean percentages of cells showing PARP-1 fluorescent signals are shown for the virus isolates tested in H.

slightly lower than those reached for isolates WTEW, WWM, and Wt1-5 after 10 hpi (figure 3C). These results suggest that infection of SP2/0-Ag14 cells with most of the rotavirus isolates studied can induce detectable apoptotic signals as early as 4 hpi.

A TUNEL assay was also used to assess DNA fragmentation after rotavirus infection of Sp2/0-Ag14 cells. This nick-end labeling method was followed in the same samples used in the immunocytochemistry assay to detect rotavirus structural antigens. A correlation was found between rotavirus-infected cells and TUNEL-positive ones. Fluorescent signals from TUNEL-positive cells showed a similar pattern to that of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated control cells (figure 3E). The percentage of TUNEL-positive cells observed in infected cells was higher than 70% for the rotavirus isolates examined at 12 hpi (figure 3F). Detection of rotavirus-induced DNA fragmentation was further confirmed by agarose gel electrophoresis. This analysis indicated that DNA fragmentation is significantly associated with rotavirus infection and the rotavirus isolate WWM seemed to induce higher DNA fragmentation generating fragments with sizes lower than 300 bp (figure 3G).

PARP-1 (113 kDa) is a eukaryote constitutive factor implicated in DNA damage surveillance to deal with DNA strand breaks produced by both exogenous and endogenous genotoxic agents (41). Drawing on the fact

that PARP-1 is activated by DNA single-strand breaks generated by some genotoxic agents and then cleaved into 89 and 24 kDa fragments during apoptosis, rotavirus-infected Sp2/0-Ag14 cells were assayed for their reactivity to a specific antibody to cleaved PARP-1. Fluorescent intensity associated with cleaved PARP-1 reactive cells was significantly higher in rotavirus-infected cells and fluorescent cells were correlated with those being positive to rotavirus antigen (figure 3H). The fluorescent pattern of cleaved PARP-1-positive cells was similar to that observed in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated control cells, except that fluorescent intensity was higher in infected cells. The proportion of infected cells showing positive fluorescent signals for cleaved PARP-1 ranged from 72 to 91% for all the rotavirus isolates studied (figure 3I).

### ***Expression of cell surface proteins in Sp2/0-Ag14 cells***

Cell surface Hsc70 and integrins such as  $\alpha$ V $\beta$ 3 have been proposed to participate in rotavirus entry into the host cell (33-35). To test for the presence of these proteins on the cell surface of the Sp2/0-Ag14 cells and that of additional cell surface proteins induced by heat shock, they were subjected to epifluorescence and flow cytometry analysis using antibodies against Hsp40, Hsp60, Hsp70, Hsp90, rHsc70, rPDI, and integrin  $\beta$ 3. The flow cytometry analysis showed a differential cell surface expression for the proteins studied. Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40, Hsc70, integrin  $\beta$ 3, and PDI were expressed in 71.1%, 34.6%, 1.1%, 30.5%, 3.5%, 14.1, and 2.4% of the cells tested, respectively, when rabbit hyperimmune sera against HSPs, PDI, and integrin  $\beta$ 3 were used as the source of primary antibodies (figure 4A).

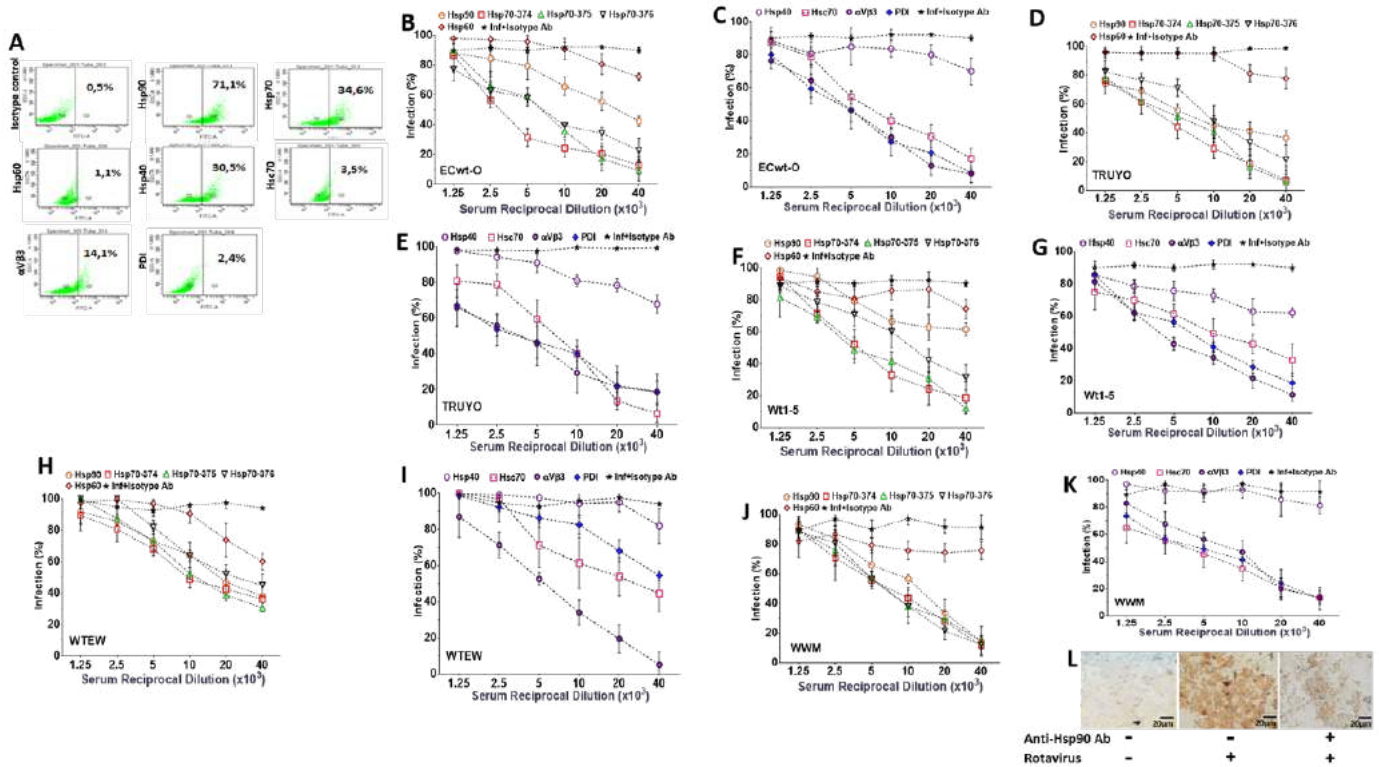
### ***Inhibition of rotavirus infection by antibodies to cell surface proteins***

Some cell surface proteins such as HSP, PDI, and integrin  $\alpha$ V $\beta$ 3 are markers of tumor progression and aggressiveness (28,42-46). Hsc70, PDI, and integrin  $\alpha$ V $\beta$ 3 have been proposed as cell surface receptors for rotavirus infection of non-tumor cells (33-35,37,47). In this context, we analyzed whether HSP, PDI, and integrin  $\beta$ 3 were involved in the entry of rotavirus isolates Wt1-5, ECwt-O, TRUYO, WWM, and WTEW into Sp2/0-Ag14 cells. To do so, cells were pre-treated with hyperimmune serum raised against synthetic peptides corresponding to specific regions of Hsp90, Hsp70, Hsp60, or Hsp40 or against rHsc70, rPDI, or integrin  $\beta$ 3.

Following infection of antibody-pretreated cells, the percentage of infected cells at 12 hpi for all the rotavirus isolates tested was reduced by antibodies directed to Hsp90, Hsp70 (374, 375 and 376), Hsc70, PDI, and integrin  $\beta$ 3 whereas no effect was observed in the case of antibodies to Hsp60 and Hsp40 (figures 4B-K).

Except for antibodies against Hsp60 and Hsp40, antibody pretreatment of cells decreased virus infection in a dose-dependent manner. In contrast, pretreatment of cells with the unrelated antibodies against potato virus Y did not affect rotavirus infection. Virus infection in the absence of cell antibody pretreatment was scored as 100%.

Representative images of immunochemistry assays of infected and non-infected control cells with or without antibody treatment are shown in figure 4L. These results suggest that cellular proteins Hsp60 and Hsp40 are not involved in the rotavirus entry into Sp2/0-Ag14 cells.

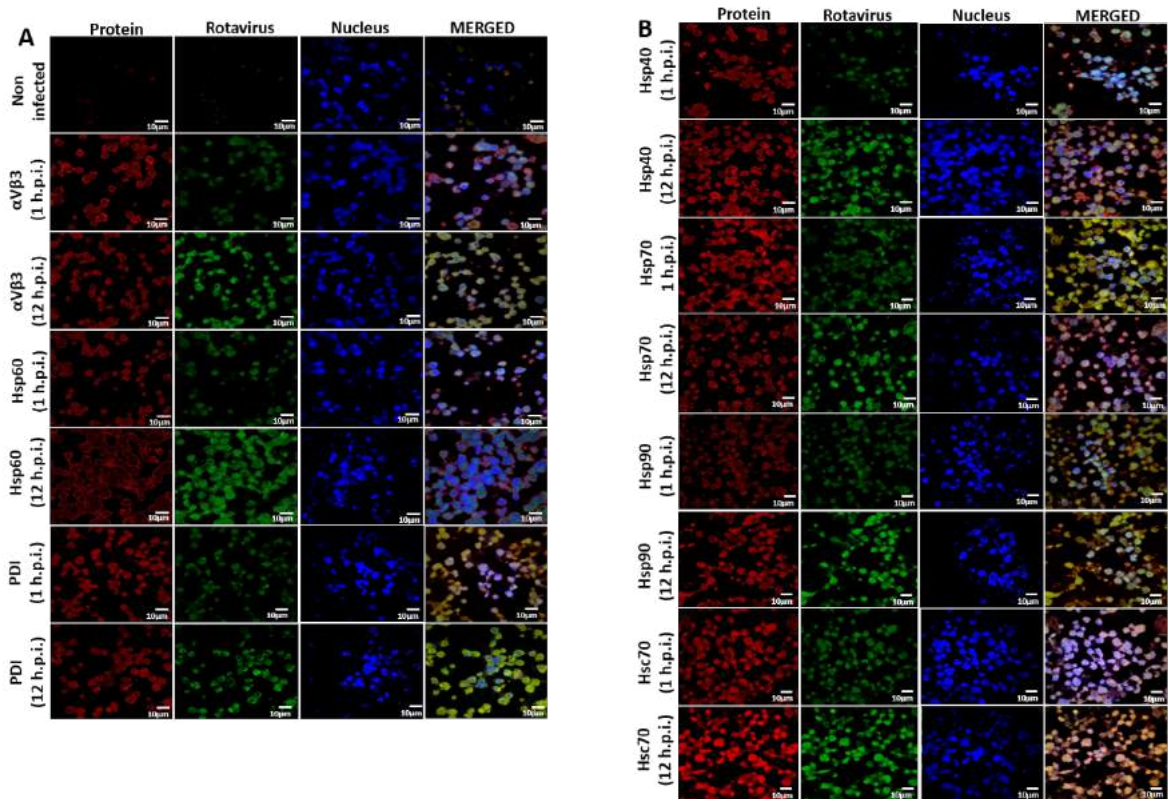


**Figure 4.** Inhibition of rotavirus infection by antibodies against cell surface proteins. A. Dot plots of fluorescent events in Sp2/0-Ag cells labeled by FITC-conjugated antibodies to the indicated cell surface proteins. Positive cells were selected by gating FITC-labelled cells in a FITC vs side scatter plot. B-K. Sp2/0-Ag cells were incubated with serial dilutions of antibodies against the indicated cell surface proteins or the indicated synthetic peptides. Cells were separately challenged with rotavirus isolates ECwt-O (B, C), TRUYO (D, E), Wt1-5 (F, G), WTEW (H, I) or WWM (J, K) at MOI 0.8 each. Percentage of infection inhibition at 12 hpi in terms of cells positive to rotavirus structural antigens was expressed relative to the corresponding rotavirus-infected control cells that had not been antibody-treated. Infected and non-infected cells treated with unrelated isotype-matched antibodies were used as a control. Percentages were normalized to those of the infected cells that had been treated with isotype antibody. L. Representative images from an immunofluorescence assay of cells non-infected (left panel), infected with virus isolate WTEW (central panel), and pre-treated with hyperimmune antiserum (reciprocal dilution 40 x 10<sup>3</sup>) against Hsp90 (right panel) before infection with isolate WTEW.

### Changes in PDI and HSP expression after rotavirus infection

Some chaperone proteins including HSP change their expression pattern during the viral infection process (48-51). We wanted to study whether ECwt-O infection of Sp2/0-Ag14 cells was able to induce changes in the expression of Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40, Hsc70, PDI, or integrin β3. After confocal microscopy analysis of permeabilized infected cells using commercial antibodies against these cellular proteins, the fluorescence intensity of Hsc70, Hsp40, and Hsp90 increased at 12 hpi compared to that observed at 1 hpi, whereas only a moderate increase was detected for PDI and integrin β3 and no changes were registered in the fluorescence signals for Hsp70 (figure 5). In the case of Hsp60, the viral infection appeared to cause its redistribution (figure 5). Besides, Hsc70 were found to overlap with structural viral antigens at 12 hpi but not at 1 hpi. Hsp40 and Hsp90 showed only a faint overlapped signal with viral antigens. A faint overlapped signal for PDI and viral antigens was detected only at 1 hpi (figure 5).





**Figure 5.** Effect of ECwt-O infection on the expression of cell surface proteins in Sp2/o-Ag cells. Cells were inoculated with ECwt-O at MOI 2. Confocal microscopy was used to determine expression changes of the indicated cellular proteins at 1 and 12 hpi. Alexa fluor 568 (red) and FITC (green)-labelled secondary antibodies were used to visualize cellular proteins and rotavirus structural proteins, respectively. Nuclei were counterstained with DAPI (blue). Cells were analyzed using a confocal microscope (Nikon C-1) and analyzed using the EZ-C1, ver. 3.90, software.

## Discussion

Most viruses can cause the death of the host cell by interacting with the cell death machinery (52), and apoptosis is one of such mechanisms. Viruses can trigger apoptosis of infected cells through a variety of molecular events.

The present study attempted to assess the death mechanisms associated with rotavirus infection of Sp2/0-Ag14 cells as an approach to understand the virus-induced death of tumor cells. First of all, rotavirus isolates ECwt-O, WTEW, TRUYO, Wt1-5, and WWM were able to replicate in Sp2/0-Ag14 cells as newly synthesized viral antigens were progressively accumulated from 2 to 12 hpi in terms of the percentage of cells being positive to viral antigens. Moreover, supernatant and cell lysate fractions from rotavirus-infected Sp2/0-Ag14 cells harvested at different post-infection times were able to infect naïve cells, which suggests that mature infectious virions can be rescued from virus-producing Sp2/0-Ag14 cells. Interestingly, all the rotavirus isolates studied were unable to replicate in L929 mouse fibroblasts and human PBMC.

Regarding that infection of Sp2/0-Ag14 cells with rotavirus isolates ECwt-O, WTEW, TRUYO, WT1-5, or WWM-induced permeability changes and early apoptotic signals in the cell membrane, besides chromatin condensation, nuclear fragmentation, and DNA fragmentation, it is plausible to suggest that rotavirus is inducing an apoptotic response in infected cells. However, rotavirus-infected Sp2/0-Ag14 cells appear to undergo lysis rather

than fragmentation into apoptotic bodies. Rotaviruses have been reported to induce apoptosis in Caco-2 cells (53) and oncosis in MA104 cells (54) where virus infection affects cell membrane integrity without inducing DNA fragmentation or formation of apoptotic bodies. On the other hand, rotavirus nonstructural protein NSP1 has been found to suppress apoptotic signaling during the first 6 h post-infection to favor cell survival (55).

Interaction between viruses and their host cells is characterized by interactions between cell surface receptors and virus structural proteins that facilitate entry. Once inside the host cell, many virus-encoded proteins can modify cellular transcription and translation patterns to favor virus multiplication.

In this regard, we wanted to study the implication of some cell surface proteins in the infection of Sp2/0-Ag14 cells by rotavirus isolates and the changes in the expression of these cellular proteins induced by the viral infection. Cell surface Hsc70, PDI, and integrin  $\alpha V\beta 3$  have been shown to interact with rotavirus structural proteins during entry into MA104 or Caco-2 cells (40,56,57). These cellular proteins, in addition to some HSP, have also been associated with cell malignancy (58,59).

Here, we found through flow cytometry and epifluorescence analysis that Sp2/0-Ag14 cells express moderate levels of Hsp90 and Hsp70 on their cell surface while Hsp60, Hsp40, Hsc70, PDI, and integrin  $\beta 3$  are expressed at low levels. These results prompted us to examine the implication of these proteins in the infection of cells Sp2/0-Ag14 cells by rotavirus isolates such as that demonstrated with Hsc70, PDI, and integrin  $\beta 3$  in MA104 and Caco-2 cells and mouse enterocytes (35,56,60). Pre-incubation of cells with antibodies to Hsp90, Hsp70, Hsc70, PDI, or integrin  $\beta 3$  resulted in decreased viral infection suggesting that these cellular proteins are used to some extent by the rotavirus isolates studied. Since all cell antibody treatments were able to completely abolish virus infection, it is suggested that rotaviruses appear to have evolved to use alternative cell surface molecules as entry pathways (36).

Here we have shown that the cellular proteins reacting with their respective antibodies fall within the three main types of cell surface proteins required in the entry into the host cell (36). For instance, integrin  $\beta 3$  is a cell surface molecule that mediates rotavirus attachment to cell (35, 56) while rotavirus entry needs chaperone activities and redox reactions performed by HSPs/Hsc70 (33,61,62) and PDI (37,57), respectively. In addition, specific inhibition of Hsp90 has been reported to decrease infection by human rotavirus strain KU and simian rotavirus strain SA11 through modulation of cellular signaling proteins (61).

Nevertheless, the implication of other cell surface proteins in rotavirus entry into Sp2/0-Ag14 cells cannot be discarded and further studies are needed. The present report highlights the role of new HSP (Hsp70, Hsp60, and Hsp40) in rotavirus infection, particularly in infection caused by reassortant rotavirus isolates adapted to tumoral cells (36). The expression of cellular HSP has been found to change during viral infections (48-51). Although host mRNA synthesis and translation were not measured in the present work, the net accumulation of the cellular proteins studied was determined at 12 hpi and compared to their expression levels at 1 hpi. Confocal analysis indicated a virus-induced differential accumulation of the cellular proteins studied where Hsc70, Hsp40, and Hsp90 accumulation was higher than that observed for PDI while a moderate change was found for PDI and no change was detected for Hsp70.

Although a redistribution of Hsp60 appeared to be caused by the viral infection at 12 hpi, we cannot say conclusively whether this redistribution involved either or both the cytoplasm or the cell membrane. However, the merged image seems to suggest that co-localization of the viral antigen and Hsp60 did not occur. Also, an apparent accumulation of Hsp60 in the cell membrane appeared to be induced by the viral infection but further assays should be conducted to confirm this apparent change in the Hsp60 redistribution. Interestingly, Hsc70 was found to overlap with viral antigens at 12 hpi. This result suggests that Hsc70 might play a role during the late stages of viral infection. However, only faint overlapping signals of viral antigens with Hsp40 and Hsp90 were detected at the same post-infection time suggesting that a minor direct role is played by these proteins at this post-infection time.

Co-localization is used in fluorescence microscopy analysis to detect protein interactions based on the signals emitted by fluorescently labeled protein species. However, interactions derived from co-localization analyses do not necessarily mean direct interaction between two proteins whose confirmation sometimes requires the use of fluorescence resonance energy transfer (FRET). In the same line of thought, although fluorescence overlapping does not necessarily mean co-localization of two molecules, in principle it may suggest an interaction. Hence, with this precaution, we can speculate that the overlapping of fluorescent signals from PDI and rotavirus structural antigens in permeabilized cells suggests a probable interaction of these proteins during the early stages of rotavirus infection.

The analysis of the fluorescent signals from integrin  $\beta 3$  and Hsc70 also suggests that these cellular proteins might interact with virion antigens during the early stages of viral life cycle. Fluorescent signals from Hsp70 and Hsp90, although in low percentage, seemed to be overlapped with those of viral antigens. Interaction of rotavirus with cellular chaperone Hsp90 has been reported during the formation of functional rotavirus nonstructural protein NSP3 (102). The strong fluorescent overlapping between Hsp70 and ECwt-O antigens at 12 hpi would suggest that this cellular protein plays some role at the late stages of the viral cycle. However, the overlapping fluorescent signal analysis needs to be confirmed at least by a confocal microscope analysis.

The ability of the rotavirus isolates here tested to replicate and cause cell death of Sp2/O-Ag14 cells through mechanisms that are compatible with virus-induced apoptosis makes these viral isolates potential candidates to be used as oncolytic agents.

## References

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin.* 2017;67:7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21387>
2. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: Epidemiological update 2016. *Eur Heart J.* 2016;37:3232-45. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw334>
3. Guo W, Chen W, Yu W, Huang W, Deng W. Small interfering RNA-based molecular therapy of cancers. *Chin J Cancer.* 2013;32:488-93. <https://doi.org/10.5732/cjc.012.10280>
4. Garzón R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: Rationale, strategies and challenges. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9:775-89. <https://doi.org/10.1038/nrd3179>
5. Morton SW, Lee MJ, Deng ZJ, Dreaden EC, Sioue E, Shopsowitz KE, *et al.* A nanoparticle-based combination chemotherapy delivery system for enhanced tumor killing by dynamic rewiring of signaling pathways. *Sci Signal.* 2014;7:325-44. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2005261>
6. Atherton MJ, Lichty BD. Evolution of oncolytic viruses: Novel strategies for cancer treatment. *Immunotherapy.* 2013;5:1191-206. <https://doi.org/10.2217/imt.13.123>



7. Negrini S, Gorgoulis VG, Halazonetis TD. Genomic instability--an evolving hallmark of cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11:220-8. <https://doi.org/10.1038/nrm2858>
8. McGranahan N, Swanton C. Biological and therapeutic impact of intratumor heterogeneity in cancer evolution. *Cancer Cell.* 2015;27:15-26. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2014.12.001>
9. Merajver S, Phadke S, Soellner M. Conquering the challenges of genotypic and phenotypic tumor heterogeneity to realize the promise of personalized cancer therapy: The role of academia. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2017;128:169-79.
10. Berghella AM, Contasta I, Lattanzio R, Di Gregorio G, Campitelli I, Silvino M, *et al.* The role of gender-specific cytokine pathways as drug targets and gender-specific biomarkers in personalized cancer therapy. *Curr Drug Targets.* 2017;18:485-95. <https://doi.org/10.2174/1389450117666160630173647>
11. Hainaut P, Plymoth A. Targeting the hallmarks of cancer: Towards a rational approach to next-generation cancer therapy. *Curr Opin Oncol.* 2013;25:50-1. <https://doi.org/10.1097/CCO.0b013e32835b651e>
12. Singh PK, Doley J, Kumar GR, Sahoo AP, Tiwari AK. Oncolytic viruses and their specific targeting to tumour cells. *Indian J Med Res.* 2012;136:571-84.
13. Howells A, Marelli G, Lemoine NR, Wang Y. Oncolytic viruses--interaction of virus and tumor cells in the battle to eliminate cancer. *Front Oncol.* 2017;7:195-9. <https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00195>
14. Kaufman HL, Kohlhapp FJ, Zloza A. Oncolytic viruses: A new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov.* 2015;14:642-62. <https://doi.org/10.1038/nrd4663>
15. Farassati F, Yang AD, Lee PW. Oncogenes in Ras signalling pathway dictate host-cell permissiveness to herpes simplex virus 1. *Nat Cell Biol.* 2001;3:745-50. <https://doi.org/10.1038/35087061>
16. Garant KA, Shmulevitz M, Pan L, Daigle RM, Ahn DG, Gujar SA, *et al.* Oncolytic reovirus induces intracellular redistribution of Ras to promote apoptosis and progeny virus release. *Oncogene.* 2016;35:771-82. <https://doi.org/10.1038/onc.2015.136>
17. Kohlhapp FJ, Kaufman HL. Molecular pathways: Mechanism of action for talimogene laherparepvec, a new oncolytic virus immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2016;22:1048-54. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2667>
18. Ebrahimi S, Ghorbani E, Khazaei M, Avan A, Ryzhikov M, Azadmanesh K, *et al.* Interferon-mediated tumor resistance to oncolytic virotherapy. *J Cell Biochem.* 2017;118:1994-9. <https://doi.org/10.1002/jcb.25917>
19. Vaha-Koskela M, Hinkkanen A. Tumor restrictions to oncolytic virus. *Biomedicines.* 2014;2:163-94. <https://doi.org/10.3390/biomedicines2020163>
20. Okamoto J, Mikami I, Tominaga Y, Kuchenbecker KM, Lin YC, Bravo DT, *et al.* Inhibition of Hsp90 leads to cell cycle arrest and apoptosis in human malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Oncol.* 2008;3:1089-95. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3181839693>
21. Truman AW, Kristjansdottir K, Wolfgeher D, Hasin N, Polier S, Zhang H, *et al.* CDK-dependent Hsp70 phosphorylation controls G1 cyclin abundance and cell-cycle progression. *Cell.* 2012;151:1308-18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.10.051>
22. Diehl JA, Yang W, Rimerman RA, Xiao H, Emili A. Hsc70 regulates accumulation of cyclin D1 and cyclin D1-dependent protein kinase. *Mol Cell Biol.* 2003;23:1764-74. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.5.1764-1774.2003>
23. Lanneau D, Brunet M, Frisan E, Solary E, Fontenay M, Garrido C. Heat shock proteins: Essential proteins for apoptosis regulation. *J Cell Mol Med.* 2008;12:743-61. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00273.x>
24. Basu S, Srivastava PK. Heat shock proteins: The fountainhead of innate and adaptive immune responses. *Cell Stress Chaperones.* 2000;5:443-51. [https://doi.org/10.1379/1466-1268\(2000\)005<0443:HSPTFO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1379/1466-1268(2000)005<0443:HSPTFO>2.0.CO;2)
25. Binder RJ. Functions of heat shock proteins in pathways of the innate and adaptive immune system. *J Immunol.* 2014;193:5765-71. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1401417>
26. Lianos GD, Alexiou GA, Mangano A, Rausei S, Boni L, Dionigi G, *et al.* The role of heat shock proteins in cancer. *Cancer Lett.* 2015;360:114-8. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.02.026>

27. Murphy ME. The HSP70 family and cancer. *Carcinogenesis*. 2013;34:1181-8. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt111>
28. Lee E, Lee DH. Emerging roles of protein disulfide isomerase in cancer. *BMB Rep*. 2017;50:401-10. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt111>
29. Liu Z, Wang F, Chen X. Integrin alpha(v)beta(3)-targeted cancer therapy. *Drug Dev Res*. 2008;69:329-39. <https://doi.org/10.1002/ddr.20265>
30. Mangurten AB, Brader KR, Loos BM, Lee E, Quiroga AI, Bathori J, *et al*. Hsp70 and Hsc70 are preferentially expressed in differentiated epithelial cells in normal human endometrium and ectocervix. *Cell Stress Chaperones*. 1997;2:168-74. [https://doi.org/10.1379/1466-1268\(1997\)002<0168:hahape>2.3.co;2](https://doi.org/10.1379/1466-1268(1997)002<0168:hahape>2.3.co;2)
31. Essex DW, Chen K, Swiatkowska M. Localization of protein disulfide isomerase to the external surface of the platelet plasma membrane. *Blood*. 1995;86:2168-73.
32. Calderwood SK, Gong J. Heat shock proteins promote cancer: It's a protection racket. *Trends Biochem Sci*. 2016;41:311-23. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.01.003>
33. Guerrero CA, Bouyssounade D, Zarate S, Isa P, López T, Espinosa R, *et al*. Heat shock cognate protein 70 is involved in rotavirus cell entry. *J Virol*. 2002;76:4096-102. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.8.4096-4102.2002>
34. Calderón MN, Guerrero CA, Acosta O, López S, Arias CF. Inhibiting rotavirus infection by membrane-impermeant thiol/disulfide exchange blockers and antibodies against protein disulfide isomerase. *Intervirology*. 2012;55:451-64. <https://doi.org/10.1159/000335262>
35. Guerrero CA, Méndez E, Zarate S, Isa P, López S, Arias CF. Integrin alpha(v)beta(3) mediates rotavirus cell entry. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:14644-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.250299897>
36. Guerrero CA, Guerrero RA, Silva E, Acosta O, Barreto E. Experimental adaptation of rotaviruses to tumor cell lines. *PLoS One*. 2016;11:e0147666. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147666>
37. Calderón MN, Guzmán F, Acosta O, Guerrero CA. Rotavirus VP4 and VP7-derived synthetic peptides as potential substrates of protein disulfide isomerase lead to inhibition of rotavirus infection. *Int J Pept Res Ther*. 2012;18:373-82. <https://doi.org/10.1007/s10989-012-9314-z>
38. Prieto I, Hervas-Stubbs S, García-Granero M, Berasain C, Riezu-Boj JI, Lasarte JJ, *et al*. Simple strategy to induce antibodies of distinct specificity: Application to the mapping of gp120 and inhibition of HIV-1 infectivity. *Eur J Immunol*. 1995;25:877-83. <https://doi.org/10.1002/eji.1830250403>
39. Arnold M, Patton JT, McDonald SM. Culturing, storage, and quantification of rotaviruses. *Curr Protoc Microbiol*. 2009. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc15c03s15>
40. Moreno LY, Guerrero CA, Acosta O. Protein disulfide isomerase and heat shock cognate protein 70 interactions with rotavirus structural proteins using their purified recombinant versions. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 2016;18:33-48. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.57714>
41. Shall S, de Murcia G. Poly(ADP-ribose) polymerase-1: What have we learned from the deficient mouse model? *Mutat Res*. 2000;460:1-15. [https://doi.org/10.1016/S0921-8777\(00\)00016-1](https://doi.org/10.1016/S0921-8777(00)00016-1)
42. Ciocca DR, Arrigo AP, Calderwood SK. Heat shock proteins and heat shock factor 1 in carcinogenesis and tumor development: An update. *Arch Toxicol*. 2013;87:19-48. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0918-z>
43. Samanta S, Tamura S, Dubeau L, Mhaweche-Fauceglia P, Miyagi Y, Kato H, *et al*. Expression of protein disulfide isomerase family members correlates with tumor progression and patient survival in ovarian cancer. *Oncotarget*. 2017;8:103543-56. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21569>
44. Lörger M, Krueger JS, O'Neal M, Staffin K, Felding-Habermann B. Activation of tumor cell integrin alphavbeta3 controls angiogenesis and metastatic growth in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:10666-71. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903035106>
45. Havaki S, Kouloukoussa M, Amawi K, Drosos Y, Arvanitis LD, Goutas N, *et al*. Altered expression pattern of integrin alphavbeta3 correlates with actin cytoskeleton in primary cultures of human breast cancer. *Cancer Cell Int*. 2007;7:16-22. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-7-16>

46. Bai SY, Xu N, Chen C, Song YL, Hu J, Bai CX. Integrin alphavbeta5 as a biomarker for the assessment of non-small cell lung cancer metastasis and overall survival. *Clin Respir J*. 2015;9:457-67. <https://doi.org/10.1111/crj.12163>
47. Gualtero DF, Guzmán F, Acosta O, Guerrero CA. Amino acid domains 280-297 of VP6 and 531-554 of VP4 are implicated in heat shock cognate protein hsc70-mediated rotavirus infection. *Arch Virol*. 2007;152:2183-96. <https://doi.org/10.1007/s00705-007-1055-5>
48. Kim MY, Oglesbee M. Virus-heat shock protein interaction and a novel axis for innate antiviral immunity. *Cells*. 2012;1:646-66. <https://doi.org/10.3390/cells1030646>
49. Khandjian EW, Turler H. Simian virus 40 and polyoma virus induce synthesis of heat shock proteins in permissive cells. *Mol Cell Biol*. 1983;3:1-8. <https://doi.org/10.1128/MCB.3.1.1>
50. Wu BJ, Hurst HC, Jones NC, Morimoto RI. The E1A 13S product of adenovirus 5 activates transcription of the cellular human HSP70 gene. *Mol Cell Biol*. 1986;6:2994-9. <https://doi.org/10.1128/MCB.6.8.2994>
51. Phillips B, Abravaya K, Morimoto RI. Analysis of the specificity and mechanism of transcriptional activation of the human hsp70 gene during infection by DNA viruses. *J Virol*. 1991;65:5680-92.
52. Kaminsky V, Zhivotovsky B. To kill or be killed: How viruses interact with the cell death machinery. *J Intern Med*. 2010;267:473-82. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2010.02222.x>
53. Bautista D, Rodríguez LS, Franco MA, Ángel J, Barreto A. Caco-2 cells infected with rotavirus release extracellular vesicles that express markers of apoptotic bodies and exosomes. *Cell Stress Chaperones*. 2015;20:697-708. <https://doi.org/10.1007/s12192-015-0597-9>
54. Pérez JF, Chemello ME, Liprandi F, Ruiz MC, Michelangeli F. Oncosis in MA104 cells is induced by rotavirus infection through an increase in intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration. *Virology*. 1998;252:17-27. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9433>
55. Bagchi P, Dutta D, Chattopadhyay S, Mukherjee A, Halder UC, Sarkar S, *et al*. Rotavirus nonstructural protein 1 suppresses virus-induced cellular apoptosis to facilitate viral growth by activating the cell survival pathways during early stages of infection. *J Virol*. 2010;84:6834-45. <https://doi.org/10.1128/JVI.00225-10>
56. Zarate S, Romero P, Espinosa R, Arias CF, López S. VP7 mediates the interaction of rotaviruses with integrin alphavbeta3 through a novel integrin-binding site. *J Virol*. 2004;78:10839-47. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.20.10839-10847.2004>
57. Calderón MN, Guerrero CA, Domínguez Y, Garzón E, Barreto SM, Acosta O. Interacción de rotavirus con la proteína disulfuro-isomerasa *in vitro* y en sistemas celulares. *Biomédica*. 2011;31:70-81. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i1.337>
58. Wang J, Cui S, Zhang X, Wu Y, Tang H. High expression of heat shock protein 90 is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in patients with advanced gastric cancer. *PLoS One*. 2013;8:e62876. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062876>
59. Zhang S, Hu Y, Huang Y, Xu H, Wu G, Dai H. Heat shock protein 27 promotes cell proliferation through activator protein-1 in lung cancer. *Oncol Lett*. 2015;9:2572-6. <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3073>
60. Isa P, Sánchez-Alemán MA, López S, Arias CF. Dissecting the role of integrin subunits alpha 2 and beta 3 in rotavirus cell entry by RNA silencing. *Virus Res*. 2009;145:251-9. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.07.013>
61. Dutta D, Chattopadhyay S, Bagchi P, Halder UC, Nandi S, Mukherjee A, *et al*. Active participation of cellular chaperone Hsp90 in regulating the function of rotavirus nonstructural protein 3 (NSP3). *J Biol Chem*. 2011;286:20065-77. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.231878>
62. Dutta D, Bagchi P, Chatterjee A, Nayak MK, Mukherjee A, Chattopadhyay S, *et al*. The molecular chaperone heat shock protein-90 positively regulates rotavirus infection. *Virology*. 2009;391:325-33. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2009.06.044>

Artículo original

## Prescripción e indicaciones de uso de fluoroquinolonas en un grupo de pacientes ambulatorios de Colombia

Manuel Enrique Machado-Duque<sup>1,2</sup>, Katherine Mercado-Gómez<sup>2</sup>, María Camila Bernal-Chica<sup>2</sup>, Stephanie Uribe-Vélez<sup>2</sup>, Jorge Enrique Machado-Alba<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia, Universidad Tecnológica de Pereira – Audifarma, S. A., Pereira, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación Biomedicina, Fundación Universitaria Autónoma de las Américas, Pereira, Colombia

**Introducción.** Existen evidencias sobre el uso indiscriminado de antibióticos en el tratamiento de diversas enfermedades.

**Objetivo.** Determinar los patrones de prescripción y de indicaciones de uso de las fluoroquinolonas en un grupo de pacientes ambulatorios en Colombia.

**Materiales y métodos.** Se llevó a cabo un estudio descriptivo farmacoepidemiológico del tipo de prescripción e indicaciones de uso a partir de una base de datos poblacionales que incluía pacientes con prescripciones ambulatorias de fluoroquinolonas entre mayo y octubre de 2018. Se recabó la información sobre las variables sociodemográficas, farmacológicas y clínicas (diagnóstico según la Clasificación Internacional de Enfermedades, versión 10) y se estableció la proporción del uso de fluoroquinolonas en indicaciones aprobadas y no aprobadas por las agencias reguladoras.

**Resultados.** Se identificaron 23.373 pacientes que habían recibido fluoroquinolonas; su edad media era de  $47,9 \pm 18,1$  años y 15.767 eran mujeres (67,5 %). La ciprofloxacina fue el medicamento más prescrito ( $n=19.328$ ; 82,7 %), seguida de la norfloxacina ( $n=3.076$ ; 13,2 %), la levofloxacina ( $n=573$ ; 2,5 %) y la moxifloxacina ( $n=394$ ; 1,7 %). Las principales indicaciones fueron la infección de las vías urinarias en sitio no especificado ( $n=10.777$ ; 46,1 %), la diarrea y la gastroenteritis de presunto origen infeccioso ( $n=3.077$ , 13,2 %) y la cistitis aguda ( $n=956$ ; 4,2 %). El 76 % ( $n=17.759$ ) de las prescripciones correspondía a indicaciones aprobadas y el resto a usos no aprobados, como la rinofaringitis o las infecciones de tejidos blandos. El ser hombre (*odds ratio*, OR=1,26; IC<sub>95%</sub>: 1,18-1,34) y tener menos de 35 años (OR=1,92; IC<sub>95%</sub>: 1,48-1,50) se asociaron con una mayor probabilidad de uso de fluoroquinolonas en indicaciones no aprobadas.

**Conclusión.** Las fluoroquinolonas, en particular la ciprofloxacina, se están prescribiendo especialmente a mujeres con infecciones de las vías urinarias, pero hasta la cuarta parte de los pacientes las recibieron para usos no aprobados por las agencias reguladoras.

**Palabras clave:** fluoroquinolonas; usos terapéuticos; uso fuera de lo indicado; farmacoepidemiología.

### Prescription and indications for the use of fluoroquinolones in a group of outpatients in Colombia

**Introduction:** There is evidence of the indiscriminate use of antibiotics for different pathologies.

**Objective:** To determine the prescription patterns and indications for the use of fluoroquinolones in a group of outpatients in Colombia.

**Materials and methods:** We conducted a descriptive pharmaco-epidemiological study on prescription-indication using a population database where patients with outpatient fluoroquinolone prescriptions were included from May to October, 2018. We obtained the information on sociodemographic, pharmacological, and clinical variables, as well as on the diagnosis according to the International Classification of Diseases, version 10, and we established if the use was approved by the regulatory agencies or if it was off-label.

**Results:** A total of 23,373 patients were identified who were using fluoroquinolones; their mean age was  $47.9 \pm 18.1$  years and women predominated ( $n=15,767$ , 67.5%). Ciprofloxacin was the medication most commonly prescribed ( $n=19,328$ , 82.7%), followed by norfloxacin ( $n=3076$ , 13.2%), levofloxacin ( $n=573$ , 2.5%), and moxifloxacin ( $n=394$ ; 1.7%). The main indications were urinary tract infection in unspecified site ( $n=10,777$ , 46.1%), diarrhea and gastroenteritis of presumed infectious origin ( $n=3077$ , 13.2%), and acute cystitis ( $n=956$ ; 4.2%). The prescriptions followed approved indications in 76% ( $n=17,759$ ) of cases while the rest were used off-label or without indication for nasopharyngitis or soft-tissue infections, for example. Being male (OR=1.26, 95%CI: 1.18-1.34) and under 35 years of age (OR=1.92, 95%CI: 1.48-1.50) were associated with a greater probability of using fluoroquinolones in unapproved indications.

**Recibido:** 19/06/2019

**Aceptado:** 30/01/2020

**Publicado:** 12/02/2020

#### Citación:

Machado-Duque ME, Mercado-Gómez K, Bernal-Chica MC, Uribe-Vélez S, Machado-Alba JE. Prescripción e indicaciones de uso de fluoroquinolonas en un grupo de pacientes ambulatorios de Colombia. *Biomédica*. 2020;40:382-90.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.5103>

#### Correspondencia:

Jorge Enrique Machado-Alba, Grupo de Investigación en Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia, Universidad Tecnológica de Pereira – Audifarma, S. A., Calle 105 No 14-140, Pereira, Colombia  
Teléfono: (57) (310) 832 6970; fax: (576) 313 7822  
machado@utp.edu.co

#### Contribución de los autores:

Manuel Enrique Machado-Duque: validación de la base de datos, análisis estadístico y redacción del manuscrito

Katherine Mercado-Gómez, María Camila Bernal-Chica y Stephanie Uribe-Vélez: recolección de la información

Todos los autores participaron en el planteamiento del proyecto, el análisis y la descripción de los resultados, la elaboración de la discusión y la aprobación final del manuscrito.

#### Financiación:

Esta investigación no tuvo ninguna financiación.

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses.

**Conclusions:** Fluoroquinolones, particularly ciprofloxacin, are being prescribed especially to women with urinary tract infections, but up to a quarter of the patients received them for unapproved indications by regulatory agencies.

**Keywords:** Fluoroquinolones; therapeutic uses; off-label use; pharmacoepidemiology.

En los últimos años se ha evidenciado el uso indiscriminado de antibióticos en el tratamiento de diversas enfermedades (1), lo que contradice las disposiciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre el uso racional de medicamentos (2). En un estudio del 2018 se encontró que las fluoroquinolonas se prescribían para tratar infecciones para las que no estaban indicadas en el 5,1 % de los casos y en el 19,9 % de las prescripciones ambulatorias para casos en los que no eran la primera línea de tratamiento (3). Por otra parte, se ha reportado que solo el 52 % de las formulaciones era adecuado para el tratamiento de primera línea (4), lo que podría asociarse con el incremento de la resistencia de agentes patógenos comunes como *Escherichia coli* en las infecciones urinarias (5,6) en hasta el 50 % de los casos en algunas regiones (7). Por último, cabe resaltar la importancia de su uso en el tratamiento de rescate de pacientes que presentan efectos secundarios o resistencia a los antibióticos de primera línea en infecciones de interés en salud pública como la tuberculosis, ya que se ha registrado una alta tasa de éxito e, incluso, reducción de la mortalidad (8).

En el documento *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine* de la OMS, elaborado por expertos en antimicrobianos para la salud humana, se plantea que la gestión del riesgo de resistencia a los antibióticos debería priorizarse en algunos grupos de antibióticos (fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera y cuarta generación) (9). Además, en el plan de acción mundial contra la resistencia a los antimicrobianos se cita una disminución del uso general de antibióticos, con excepción de las fluoroquinolonas, especialmente en el ámbito comunitario (10). En los Estados Unidos se ha estimado que 115 de las recetas de cada 1.000 casos corresponden a fluoroquinolonas, siendo este el tercer grupo de antibióticos más prescrito en la población adulta (11).

En los estudios de Colombia, se ha establecido que las fluoroquinolonas están entre los grupos de antibióticos más formulados después de las penicilinas, las cefalosporinas y las sulfonamidas, aunque con grandes diferencias entre ciudades: desde 14,2 hasta 61,1 prescripciones por cada 1.000 pacientes; sin embargo, no se han publicado estudios sobre las indicaciones y la forma de utilización de este grupo de antimicrobianos en el país (12,13).

El sistema de salud de Colombia ofrece cobertura universal en uno de dos regímenes de afiliación, uno contributivo, que es pagado por el trabajador y el empleador, y el otro subsidiado, pagado por el Estado, que incluye algunas de las fluoroquinolonas para uso ambulatorio y hospitalario.

Debido a su frecuente uso, al riesgo de utilización inapropiada e, incluso, a los potenciales problemas de seguridad, el objetivo de este estudio fue determinar los patrones de utilización, las indicaciones y los usos de las fluoroquinolonas en un grupo de pacientes ambulatorios de Colombia durante el 2018.

## **Materiales y métodos**

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo observacional para establecer la prescripción y las indicaciones de las formulaciones de fluoroquinolonas en pacientes ambulatorios mayores de 18 años de edad y de cualquier sexo afiliados a alguna de las seis entidades promotoras de salud (EPS)

a las cuales Audifarma, S.A. empresa encargada del proceso logístico de dispensación de medicamentos a instituciones dispensó medicamentos entre mayo y octubre del 2018. La información se obtuvo de la base de datos poblacionales de dispensación de Audifarma, S.A., la cual ha sido validada y utilizada en diferentes estudios farmacoepidemiológicos. Se excluyeron los pacientes sin diagnóstico de infección y se incluyeron todos aquellos con infecciones listadas en la Clasificación Internacional de las Enfermedades, versión 10 (CIE-10: A00-A99, B00-B99).

Se elaboró una base de datos con los registros de todos los pacientes a quienes se dispensaron fluoroquinolonas y con las variables de interés, información que fue validada por el equipo de investigación (revisión de valores faltantes, identificación y validación de datos extremos y unificación de valores).

Se consideraron los siguientes grupos de variables:

- 1) Sociodemográficas: edad, sexo, ciudad de residencia y EPS.
- 2) Farmacológicas: nombre y código según el *Anatomical Therapeutic Chemical Classification System* (ATC) de las fluoroquinolonas prescritas, dosis, intervalo y duración de la terapia. Se calcularon las dosis diarias definidas como forma de comparación del uso del medicamento.
- 3) Clínicas: diagnóstico principal asociado con cada prescripción de fluoroquinolonas según el código CIE-10, y la indicación aprobada o no aprobada según los registros de la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos y el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima) de Colombia. Se categorizaron como indicaciones aprobadas para la ciprofloxacina el ántrax, la infección abdominal adquirida en la comunidad, la osteomielitis, la infección por *Yersinia pestis*, la neumonía por *Pseudomonas aeruginosa*, la prostatitis, la infección gastrointestinal, el uso como medicamento alternativo en la artritis séptica y la infección de vías urinarias.

Las indicaciones aprobadas para la norfloxacina incluyeron la prostatitis, la infección urinaria, la gonorrea no complicada, la peritonitis bacteriana espontánea y la diarrea del viajero.

Las indicaciones para la levofloxacina fueron el ántrax, la exacerbación aguda de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (sospecha de *P. aeruginosa*), la erradicación de *Helicobacter pylori*, la neumonía adquirida en la comunidad, la infección por *Y. pestis*, la prostatitis, la rinosinusitis bacteriana aguda, la celulitis purulenta con sospecha de infección por bacilos Gram negativos, la tuberculosis y la infección urinaria.

El uso de la moxifloxacina se contempló para la bronquitis crónica con exacerbación aguda, la neumonía adquirida en la comunidad, las infecciones abdominales, la rinosinusitis bacteriana aguda, la celulitis purulenta con sospecha de infección por bacilos Gram negativos y la tuberculosis.

- 4) Comedicaciones y comorbilidades: se completaron los registros con las dispensaciones concomitantes que recibían los pacientes utilizando estas como variables sustitutas de la siguiente manera: a) antihipertensivos (hipertensión arterial); b) hipolipemiantes (dislipidemia, riesgo cardiovascular); c) aspirina, antiagregantes plaquetarios (enfermedad coronaria); d) antidepresivos (depresión, ansiedad); e) antidiabéticos e insulinas (diabetes mellitus); f) antirreumáticos modificadores de enfermedad (artritis reumatoide); g) antiinflamatorios no esteroideos (AINE) (inflamación o dolor), y h) analgésicos (dolor).

El estudio recibió el aval del Comité de Bioética de la Universidad Tecnológica de Pereira como investigación sin riesgo. Se respetaron los principios establecidos por la Declaración de Helsinki. En ningún caso se emplearon datos personales de los pacientes.

### Plan de análisis

La base de datos se analizó con el programa SPSS™, versión 25.0, para Windows (IBM, USA). Las variables cuantitativas se resumieron en medidas de tendencia central y de dispersión, y las categóricas, en frecuencias y proporciones.

Se hicieron análisis bivariados mediante la prueba de ji al cuadrado en busca de posibles variables asociadas con el uso de fluoroquinolonas en indicaciones no aprobadas por las agencias reguladoras.

Se desarrolló un modelo multivariado de regresión logística binaria que incluyó las variables asociadas en los análisis bivariados, así como aquellas con suficiente plausibilidad o asociación reportada para identificar las que se pudieran asociar con el uso de fluoroquinolonas en indicaciones no aprobadas después del ajuste. Las diferencias significativas se establecieron con un valor de p menor de 0,05.

### Resultados

Se identificaron 23.373 personas con prescripción de alguna fluoroquinolona; su edad media fue de  $47,9 \pm 18,1$  años, y la mayoría eran mujeres ( $n=15.767$ , 67,5 %). La ciudad con el mayor número de pacientes fue Bogotá ( $n=7.152$ ; 30,6 %), seguida de Barranquilla ( $n=1.962$ ; 8,4 %), Cali ( $n=1.902$ ; 8,1 %), Cartagena ( $n=1.515$ ; 6,5 %), Pereira ( $n=1.024$ ; 4,4 %), Santa Marta ( $n=966$ ; 4,1 %), Bucaramanga ( $n=791$ ; 3,4 %) y Medellín ( $n=625$ ; 2,7 %). Los restantes pacientes eran atendidos en otras 88 ciudades.

La mayoría de las prescripciones de fluoroquinolonas habían sido formuladas por medicina general ( $n=21.332$ ; 91,3 %), seguidas de cirugía general ( $n=566$ ; 2,4 %), urología ( $n=235$ ; 1,0 %), gastroenterología ( $n=178$ ; 0,8 %), odontología ( $n=194$ ; 0,8 %), y medicina interna ( $n=139$ ; 0,6 %), en tanto que las prescripciones de los restantes 729 pacientes (3,1 %) habían sido recetadas por otras 27 especialidades. Se encontraron 25 prescripciones hechas por personal no autorizado por las normas como personal de enfermería, nutrición, optometría y terapia respiratoria.

La ciprofloxacina fue la fluoroquinolona más prescrita, seguida de la norfloxacina, en tanto que la levofloxacina y la moxifloxacina solo se formularon en el 4,1 % de los casos. En el cuadro 1 se presentan los patrones de prescripción con frecuencias de uso, dosis, relación con las dosis diarias definidas y la distribución por sexo.

**Cuadro 1.** Patrones de prescripción, frecuencias de uso, dosis, relación con la dosis diaria definida y distribución por sexo en pacientes ambulatorios de Colombia con prescripción de fluoroquinolonas, 2018

Medicamento	Dosis prescrita (mg/día)				Sexo		Edad (media $\pm$ DE)	
	(n)	(%)	Media	Moda	nDDD <sup>a</sup>	M (%)		F (%)
Ciprofloxacina	19.328	82,7	1.044	1.000	1,04	33,7	66,3	47,5 $\pm$ 18,8
Norfloxacina	3.076	13,2	789	800	0,98	24,3	75,7	49,2 $\pm$ 18,1
Levofloxacina	573	2,5	777	500	1,55	36,3	63,7	54,7 $\pm$ 16,0
Moxifloxacino	394	1,7	616	400	1,54	35,0	65,0	49,3 $\pm$ 17,3

DDD: dosis diaria definida; DE: desviación estándar

M: masculino; F: femenino

<sup>a</sup> Relación entre la dosis media y la dosis diaria definida



**Cuadro 2.** Principales diagnósticos no aprobados registrados en la prescripción de fluoroquinolonas a pacientes ambulatorios de Colombia, 2018 (n=23.373)

Diagnóstico	n	(%)
Rinofaringitis	943	4,0
Infección de tejidos blandos	810	3,5
Vaginitis, vulvitis y vulvovaginitis	757	3,2
Gastritis	708	3,0
Otitis	633	2,7
Conjuntivitis	110	0,5
Infección de etiología fúngica	81	0,3
Otros diagnósticos no aprobados	1.572	6,7

**Cuadro 3.** Variables asociadas con usos no aprobados de fluoroquinolonas mediante una regresión logística binaria en pacientes ambulatorios de Colombia, 2018

Variable	Significación estadística	Odds ratio	Intervalo de confianza del 95 %	
			Inferior	Superior
Edad menor de 35 años	<0,001	1,928	1,483	2,507
Edad entre 35 y 65 años	0,001	1,546	1,196	1,998
Edad entre 65 y 85 años	0,238	1,17	0,902	1,518
Edad mayor de 85 años	<0,001	Ref	Ref	Ref
Ser hombre	<0,001	1,262	1,183	1,347
Ser tratado en Bogotá	<0,001	1,189	1,104	1,28
Ser tratado en Barranquilla	0,001	1,189	1,072	1,319
Ser tratado en Santa Marta	<0,001	0,696	0,59	0,82
Ser tratado en Medellín	<0,001	0,719	0,603	0,858
Ser tratado en Bucaramanga	0,002	0,768	0,647	0,911
Utilizar levofloxacina	<0,001	8,995	7,465	10,837
Utilizar alfa-bloqueadores	0,002	0,621	0,463	0,834
Utilizar fibratos	0,038	0,783	0,621	0,987
Utilizar insulinas	<0,001	1,6	1,301	1,968

Las principales indicaciones encontradas fueron la infección de las vías urinarias de sitio no especificado (n=10.777; 46,1 %), la diarrea y la gastroenteritis de presunto origen infeccioso (n=3.077; 13,2 %), la cistitis aguda (n=956; 4,2 %), la infección de tejidos blandos (n=810; 3,3 %), la vaginitis, la vulvitis y la vulvovaginitis (n=742; 3,1 %), las infecciones de etiología viral (n=568; 2,3 %), y las de etiología fúngica (n=81; 0,1 %). Además, se hallaron 10 pacientes en estado de gestación con prescripción de fluoroquinolonas.

El 76 % (n=17.759) de las prescripciones respondía a indicaciones aprobadas por la FDA, en tanto que el 24 % (n=5.614) restante se usaba sin el respaldo científico de ensayos clínicos controlados o guías de práctica clínica. En el cuadro 2 se presentan los principales diagnósticos no aprobados para su uso.

El 34,2 % (n=8.003) de los pacientes recibía alguna otra medicación, 21,8 % de ellos con dos o más fármacos, siendo los más frecuentemente prescritos los antihipertensivos (n=5.346; 22,9 %), especialmente los bloqueadores del receptor de angiotensina (n=3.305; 14,1 %), seguido de los beta-bloqueadores (n=1.632; 7,0 %), los bloqueadores de los canales de calcio (n=1.606; 6,9 %), la hidroclorotiacida (n=1.265; 5,4 %), los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (n=897; 3,8 %), la furosemida (n=649; 2,8 %) y la espironolactona (n=290; 1,2 %). También se encontraron comedificaciones frecuentes con las estatinas (n=3.940; 16,9 %), los fibratos (n=520; 2,2 %), los antidepresivos (n=2.082; 8,9 %), los antirreumáticos modificadores de enfermedad (n=373; 1,5 %), o antidiabéticos como la metformina (n= 1.180; 5,0 %), las insulinas (n=533; 2,3 %), y las incretinas (n=329; 1,4 %).

El análisis multivariado evidenció que el pertenecer al grupo de menores de 35 años, o de 35 a 65 años, ser hombre, ser tratado en Bogotá o Barranquilla y recibir levofloxacina o insulina se asociaron con una mayor probabilidad de que la fluoroquinolona fuera prescrita para indicaciones no aprobadas por la



FDA, en tanto ser tratado en Santa Marta, Medellín o Bucaramanga, recibir tratamiento con bloqueadores alfa-adrenérgicos o con fibratos se asociaron con una menor probabilidad de uso no aprobado (cuadro 3)

## Discusión

Con el presente estudio se lograron determinar las indicaciones de uso de las fluoroquinolonas en pacientes ambulatorios en una muestra representativa de pacientes mayores de 18 años en Colombia, por lo que constituye un punto de partida para indagar la forma en que se están empleando las fluoroquinolonas, y sería útil en la elaboración de estrategias de racionalización y mejoramiento de su empleo. Esto reviste un especial interés porque se trata de medicamentos ampliamente utilizados en la práctica clínica, que presentan una creciente resistencia frente a diversos microorganismos y han suscitado nuevas alertas de seguridad (7,14,15).

Uno de los resultados importantes fue que el uso ajustado a las recomendaciones aprobadas se registró en cerca del 75 % de los casos, lo que se explicaría por la elevada frecuencia de su uso en infecciones urinarias para las cuales están aprobadas como primera (pielonefritis aguda) o segunda línea (cistitis aguda) de tratamiento (16,17). Para otras indicaciones, como las infecciones de tejidos blandos, cuyo tratamiento con fluoroquinolonas fue aprobado por las agencias reguladoras solo en algunos casos, existiría cierta controversia, puesto que ninguna guía de práctica clínica las recomienda como elección o alternativa, por lo que su uso se puede considerar inapropiado por estar asociado a fracasos terapéuticos, a la posible adquisición de resistencia bacteriana y a la aparición de efectos secundarios evitables (18). Además, merece especial consideración el hallazgo de su formulación para infecciones de etiología viral o fúngica en las cuales su uso no está respaldado por ningún estudio (19,20), o su prescripción en mujeres gestantes en quienes su empleo se restringe a los casos de ántrax o a situaciones en las que el beneficio pudiera superar los riesgos (21).

En otros estudios, como el llevado a cabo en los Estados Unidos por Almalki, *et al.*, se encontró que cerca del 53 % de las prescripciones de fluoroquinolonas se hacía para indicaciones no aprobadas, lo cual contrasta con el 76 % de usos aprobados hallado en el presente trabajo (22). En el estudio de Ray, *et al.*, se reportó que en los casos de uso de antimicrobianos en general, el 25 % se había prescrito de manera inapropiada y el 18 %, sin indicación documentada; en cuanto a las fluoroquinolonas, la situación empeoraba debido a que en el 38 % de los casos su uso había sido inapropiado y en el 20 % se había prescrito sin indicación documentada (23). Por otra parte, en un estudio publicado por Suzuki, *et al.*, sobre la prescripción de fluoroquinolonas en el momento del alta hospitalaria, se halló que en el 41,1 % de los casos su uso había sido inapropiado, y la frecuencia del mal uso aumentaba en aquellos centros hospitalarios sin estrategias de uso racional de antimicrobianos (24).

Para contrarrestar las prescripciones que no se ajustan a los usos aprobados deben implementarse intervenciones de educación continua, así como la difusión de guías de práctica clínica para mejorar el uso de los medicamentos.

Como era de esperarse, en este estudio la mayoría de estas prescripciones estuvo a cargo de médicos generales, lo que responde a las características del sistema de salud del país, en el que predomina la atención de primer nivel, y se sabe que las fluoroquinolonas están indicadas principalmente

para el manejo de infecciones leves y moderadas con un nivel de atención de baja complejidad. Llama la atención el hallazgo de prescripciones hechas por personal de otras áreas de la salud, cuando la ley establece que deben ser expedidas por los profesionales competentes (25). Incluso se ha podido establecer que los estudiantes de medicina prescriben medicamentos (26) y que se despachan antibióticos en las farmacias sin fórmula médica (27,28). Esta situación debe controlarse debido al incremento de la resistencia antibiótica y la necesidad de aplicar la racionalidad en la prescripción.

En este estudio, la ciprofloxacina y la norfloxacina, las fluoroquinolonas más prescritas, se habían formulado en las dosis recomendadas por la OMS y en los intervalos adecuados, en tanto que las dosis de levofloxacina y moxifloxacina excedían en 50 % la dosis diaria definida (aunque tales cantidades siguen estando dentro del rango recomendado para la mayoría de indicaciones, en especial las infecciones de las vías urinarias y de las respiratorias inferiores), y en los intervalos adecuados (16,29).

Al igual que en un estudio realizado en los Estados Unidos, se halló que los hombres tenían mayores probabilidades de recibir las fluoroquinolonas en indicaciones no aprobadas (OR=3,26 Vs. 1,26 en este estudio), pero en aquel se encontró que los adultos mayores de 80 años también tenían ese riesgo, lo cual difiere del presente estudio en el que tal asociación se estableció para los menores de 65 años (22). En cuanto al uso de bloqueadores alfa-adrenérgicos, en este estudio se encontró que era un factor protector frente a las prescripciones no aprobadas, probablemente debido a su estrecha relación con el tratamiento de la hipertrofia prostática benigna y complicaciones como la prostatitis o las infecciones urinarias en hombres, para las cuales el uso de fluoroquinolonas está aprobado, así como lo está el uso de antimicrobianos conjuntamente con los bloqueadores alfa por haberse demostrado que logran una mejoría significativa según la escala *National Institutes of Health Chronic Prostatitis Symptom Index* (NIH-CPSI) (30).

Se han planteado posibles explicaciones para el uso de las fluoroquinolonas en indicaciones no aprobadas: en algunos estudios se ha encontrado que la prescripción inapropiada de antibióticos es bastante frecuente para las infecciones de las vías respiratorias superiores, especialmente por parte de los médicos de atención primaria, y que los pacientes desconocen el origen de la sintomatología y la naturaleza autolimitada de estas afecciones (23,31). En respuesta, se ha encontrado que estrategias como los programas de optimización del uso de los antimicrobianos (*antimicrobial stewardship*) podrían evitar las prescripciones inapropiadas de fluoroquinolonas (24,31).

El presente estudio tuvo algunas limitaciones: solo se tenía información sobre el diagnóstico principal asociado con la prescripción de las fluoroquinolonas cuando su uso podría ser el indicado para el diagnóstico secundario o para otro no registrado; además, se desconocían las potenciales contraindicaciones, las reacciones adversas o el nivel de cumplimiento del tratamiento. Por otra parte, la distribución por ciudades dependió de los lugares donde cada EPS tenía afiliados. Sin embargo, el estudio fue riguroso en la obtención de la información y el tamaño de la muestra en los diversos lugares del país, pues se contaba con una base de datos confiable utilizada ampliamente en estudios farmacoepidemiológicos previos, así como con los registros de dispensación de cada medicamento, de los diagnósticos y las variables sociodemográficas.

Los hallazgos permiten concluir que la mayoría de los pacientes que estaban recibiendo fluoroquinolonas, especialmente ciprofloxacina y norfloxacina, eran en su mayoría mujeres que estaban siendo tratadas principalmente para infecciones del tracto urinario para las cuales su uso está aprobado por la FDA y el Invima. Sin embargo, en una cuarta parte de los casos se utilizaron para indicaciones no aprobadas, especialmente la levofloxacina en hombres y en menores de 35 años. Por ello se recomienda hacer nuevos estudios que profundicen en las formas de uso, las indicaciones y las reacciones adversas asociadas con las fluoroquinolonas en pacientes colombianos.

### Agradecimientos

A Sofy López por su gestión en la obtención de la base de datos.

### Referencias

1. CDC. Antibiotic use in the United States, 2017: Progress and opportunities. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC; 2017. Fecha de consulta: 20 de enero de 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/antibiotic-use/stewardship-report/pdf/stewardship-report.pdf>
2. Organización Mundial de la Salud. Promoción del uso racional de medicamentos: componentes centrales. Perspectivas políticas sobre medicamentos de la OMS. 2002. Fecha de consulta: 31 de mayo de 2019 Disponible en: <https://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s4874s/s4874s.pdf>
3. Kabbani S, Hersh AL, Shapiro DJ, Fleming-Dutra KE, Pavia AT, Hicks LA. Opportunities to improve fluoroquinolone prescribing in the United States for adult ambulatory care visits. *Clin Infect Dis*. 2018;67:134-6. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy035>
4. Hersh AL, Fleming-Dutra KE, Shapiro DJ, Hyun DY, Hicks LA. Frequency of first-line antibiotic selection among US ambulatory care visits for otitis media, sinusitis, and pharyngitis. *JAMA Intern Med*. 2016;176:1870-2. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2016.6625>
5. Fasugba O, Gardner A, Mitchell BG, Mnatzaganian G. Ciprofloxacin resistance in community- and hospital-acquired *Escherichia coli* urinary tract infections: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMC Infect Dis*. 2015;15:545. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1282-4>
6. Kabbara WK, Ramadan WH, Rahbany P, Al-Natour S. Evaluation of the appropriate use of commonly prescribed fluoroquinolones and the risk of dysglycemia. *Ther Clin Risk Manag*. 2015;11:639-47. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S81280>
7. World Health Organization. Antimicrobial resistance: Global report on surveillance. World Health Organization; 2014. Fecha de consulta: 20 de enero de 2019. Disponible en: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748\\_eng.pdf;jsessionid=5A9FF7C6F7F6C574BFF16F0F8EAB7FA7?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf;jsessionid=5A9FF7C6F7F6C574BFF16F0F8EAB7FA7?sequence=1)
8. Collaborative Group for the Meta-Analysis of Individual Patient Data in MDR-TB treatment, Ahmad N, Ahuja SD, Akkerman OW, Alffenaar J-WC, Anderson LF, *et al*. Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis: An individual patient data meta-analysis. *Lancet*. 2018;392:821-34. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31644-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31644-1)
9. World Health Organization. Critically important antimicrobials for human medicine: Ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use. World Health Organization; 2017. Fecha de consulta: 20 de enero de 2019. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s22251en/s22251en.pdf>
10. World Health Organization. Monitoring and evaluation of the global action plan on antimicrobial resistance (AMR): Regional expert consultation on monitoring and evaluation of AMR interventions. Washington, D.C.: World Health Organization; 2017. Fecha de consulta: 20 de enero de 2019. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i7711e.pdf>
11. Hicks LA, Bartoces MG, Roberts RM, Suda KJ, Hunkler RJ, Taylor TH, Jr., *et al*. US outpatient antibiotic prescribing variation according to geography, patient population, and provider specialty in 2011. *Clin Infect Dis*. 2015;60:1308-16. <https://doi.org/10.1093/cid/civ076>
12. Machado-Alba JE, González-Santos DM. Dispensación de antibióticos de uso ambulatorio en una población colombiana. *Revista de Salud Pública*. 2009;11:734-44.

13. López JJ, Garay AM. Estudio de utilización de antibióticos en el servicio de consulta externa de un hospital público en Bogotá, DC. *Revista Colombiana de Ciencias Químicas y Farmacéuticas*. 2016;45:35-47. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n1.58014>
14. Redgrave LS, Sutton SB, Webber MA, Piddock LJ. Fluoroquinolone resistance: Mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol*. 2014;22:438-45. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.04.007>
15. Peters S. FDA issues new fluoroquinolone safety warnings and prescribing restrictions. *S D Med*. 2016;69:418-21.
16. European Association of Urology. Guidelines on urological infections 2015. Fecha de consulta: 20 de enero de 2019. Disponible en: [https://uroweb.org/wp-content/uploads/19-Urological-infections\\_LR2.pdf](https://uroweb.org/wp-content/uploads/19-Urological-infections_LR2.pdf)
17. European Medicines Agency. Disabling and potentially permanent side effects lead to suspension or restrictions of quinolone and fluoroquinolone antibiotics United Kingdom 2018. Fecha de consulta: 20 de enero de 2019. Disponible en: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/press-release/disabling-potentially-permanent-side-effects-lead-suspension-restrictions-quinolone-fluoroquinolone\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/press-release/disabling-potentially-permanent-side-effects-lead-suspension-restrictions-quinolone-fluoroquinolone_en.pdf)
18. Raff AB, Kroshinsky D. Cellulitis: A review. *JAMA*. 2016;316:325-37. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.8825>
19. Sandoval-Paredes J, Sandoval-Paz C. Uso de fármacos durante el embarazo. *Horizonte Médico*. 2018;18:71-9. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n2.11>
20. Bar-Oz B, Moretti ME, Boskovic R, O'Brien L, Koren G. The safety of quinolones--a meta-analysis of pregnancy outcomes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2009;143:75-8. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2008.12.007>
21. American Pharmacists Association. Drug Information Handbook. 27th edition. Washington, D.C.: Lexicomp; 2018-2019. p. 503-8.
22. Almalki ZS, Alahmari AK, Guo JJ, Cavanaugh TM. Off-label use of oral fluoroquinolone antibiotics in outpatient settings in the United States, 2006 to 2012. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2016;25:1042-51. <https://doi.org/10.1002/pds.4021>
23. Ray MJ, Tallman GB, Bearden DT, Elman MR, McGregor JC. Antibiotic prescribing without documented indication in ambulatory care clinics: National cross sectional study. *BMJ*. 2019;367:l6461. <https://doi.org/10.1136/bmj.l6461>
24. Suzuki H, Perencevich EN, Alexander B, Beck BE, Goto M, Lund BC, *et al*. Inpatient fluoroquinolone stewardship improves the quantity and quality of fluoroquinolone-prescribing at hospital discharge: A retrospective analysis among 122 Veterans Health Administration Hospitals. *Clin Infect Dis*. 2019. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz967>
25. Ministerio de Salud y Protección Social. Decreto Número 780 de 2016 Colombia 2016. Fecha de consulta: 20 de enero de 2019. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/decreto-780-unico-modificado-2016.pdf>
26. Machado-Alba JE, Machado-Duque ME, Alzate-Carvajal V. Drugs prescribed by medical students: A suitable practice? *Public Health*. 2015;129:579-81. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2015.01.027>
27. Vacca CP, Niño CY, Reveiz L. Restriction of antibiotic sales in pharmacies in Bogotá, Colombia: A descriptive study. *Rev Panam Salud Pública*. 2011;30:586-91.
28. Simó S, Fraile D, Sánchez A, García-Algar O. Dispensing of over-the-counter drugs in pharmacies. *An Pediatr (Barc)*. 2013;79:10-4. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2012.10.015>
29. Montúfar FE, Varón FA, Giraldo LF, Sáenz ÓA, Rodríguez A, Alarcón AM, *et al*. Recomendaciones para el diagnóstico, tratamiento y prevención de la neumonía adquirida en la comunidad en adultos inmunocompetentes. *Infectio*. 2013;17(1S). [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(13\)70019-5](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(13)70019-5)
30. Thakkinstian A, Attia J, Anothaisintawee T, Nickel JC.  $\alpha$ -blockers, antibiotics and anti-inflammatories have a role in the management of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *BJU Int*. 2012;110:1014-22. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2012.11088.x>
31. Wang J, Wang P, Wang X, Zheng Y, Xiao Y. Use and prescription of antibiotics in primary health care settings in China. *JAMA Intern Med*. 2014;174:1914-20. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2014.5214>

Original article

## Application of the “syndemics” theory to explain unprotected sex and transactional sex: A cross-sectional study in men who have sex with men (MSM), transgender women, and non-MSM in Colombia

Beatriz E. Alvarado<sup>1</sup>, Héctor Fabio Mueses<sup>2</sup>, Jaime Galindo<sup>2</sup>, Jorge Luis Martínez-Cajas<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Public Health Sciences, Queens University, Kingston, Canada

<sup>2</sup> Corporación de Lucha contra el SIDA, Cali, Colombia

<sup>3</sup> Department of Medicine, Division of infectious Diseases, Queen's University, Kingston, Canada

**Introduction:** Men who have sex with men (MSM) and transgender women (TW) in Colombia are highly affected by HIV. To improve understanding of the role of HIV risk behaviors in HIV acquisition, we used the syndemic framework, a useful concept to inform prevention efforts.

**Objective:** To examine the effect of four psychosocial conditions, namely, forced sex, history of childhood sexual abuse, frequent alcohol use, and illicit drug use on unprotected sex and the synergistic effects (“syndemic” effects) of these conditions on HIV risk behavior.

**Materials and methods:** We enrolled a total of 812 males (54.7% men who have sex with men, MSM; 7.3% transgender women, and 38% non-MSM). The participants were recruited from neighborhoods of low socioeconomic status through free HIV-counseling and -testing campaigns. We performed Poisson regression analysis to test the associations and interactions between the four psychosocial conditions and unprotected sex with regular, occasional, and transactional partners. To test the “syndemic” model, we assessed additive and multiplicative interactions.

**Results:** The prevalence of any psychosocial condition was 94.9% in transgender women, 60.1% in MSM, and 72.2% in non-MSM. A higher likelihood of transactional sex was associated in MSM (prevalence ratio (PR)=7.41,  $p<0.001$ ) and non-MSM (PR=2.18,  $p<0.001$ ) with three or all four conditions compared to those with one condition. Additive interactions were present for all combinations of psychosocial problems on transactional sex in MSM. No cumulative effect or additive interaction was observed in transgender women.

**Conclusions:** Our study highlights the need for bundled mental health programs addressing childhood sexual abuse, illicit drug use, and frequent alcohol use with other HIV prevention programs.

**Keywords:** “Syndemic”; HIV; unsafe sex; sexual and gender minorities.

**Aplicación de la teoría de la “sindemia” para entender el sexo sin protección y el sexo comercial: un estudio transversal en hombres que tienen sexo con hombres (HSH), mujeres transexuales y hombres que no tienen sexo con hombres en Colombia**

**Introducción.** Los hombres que tienen sexo con hombres (HSH), y las mujeres transgénero (MT) en Colombia continúan estando a mayor riesgo de VIH. Para entender como los comportamientos se asocian al VIH, se usó la teoría de la sindemia, la cual se ha considerado muy útil en el desarrollo de estrategias de prevención.

**Objetivo.** Examinar el efecto de cuatro afecciones psicosociales, a saber: historia de sexo forzado, historia de abuso sexual infantil, consumo frecuente de alcohol y consumo de drogas ilícitas en las relaciones sexuales sin protección, así como los efectos sinérgicos (efectos “sindémicos”) de estas afecciones sobre el comportamiento de riesgo para HIV.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio transversal que incluyó 812 participantes (hombres que tienen sexo con hombres, HSH: 54,7 %; mujeres transgénero: 7,3 % y hombres que no tenían sexo con otros hombres: 38 %). Los participantes se reclutaron en barrios de estratos socioeconómicos bajos a través de campañas gratuitas de asesoramiento y pruebas de HIV. Se hizo un análisis de regresión de Poisson para probar las asociaciones e interacciones entre las cuatro condiciones psicosociales y las relaciones sexuales sin protección con parejas regulares, ocasionales y comerciales. Para probar el modelo “sindémico” se evaluaron las interacciones aditivas y multiplicativas.

**Resultados.** La prevalencia de cualquiera de las condiciones psicosociales fue de 94,9 % en mujeres transexuales, de 60,1 % en HSH y de 72,2 % en hombres que no tienen sexo con hombres. Se encontró una mayor probabilidad de tener sexo comercial en los HSH (razón de prevalencia (RP)=7,41,  $p<0,001$ ) y en los que no tienen sexo con otros hombres (RP=2,18,  $p<0,001$ ) con tres de las condiciones psicosociales, o con las cuatro, en comparación con aquellos con una sola condición. Las interacciones aditivas se registraron entre todas

**Received:** 19/06/2019

**Accepted:** 24/02/2020

**Published:** 14/04/2020

**Citation:**

Alvarado BE, Mueses HF, Galindo J, Martínez-Cajas JL. Application of the “syndemics” theory to explain unprotected sex and transactional sex: A cross-sectional study in men who have sex with men (MSM), transgender women, and non-MSM in Colombia. *Biomédica*. 2020;40:391-403. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5082>

**Corresponding author:**

Beatriz E Alvarado, Public Health Sciences, Queen's University, Kingston ON K7L 3N6, Canada  
Telephone: 6134498409  
alvaradb@queensu.ca

**Author contributions:**

Héctor Fabio Mueses and Jaime Galindo designed the research and reviewed the article for intellectual content.

Beatriz E. Alvarado, Jorge Luis Martínez-Cajas and Héctor Fabio Mueses analyzed the data.

Beatriz E. Alvarado and Jorge Luis Martínez-Cajas wrote the article.

All authors read and approved the final manuscript

**Funding:**

Corporación de Lucha contra el SIDA, internal funds

**Conflicts of interest:**

None

las combinaciones de problemas psicosociales con el sexo comercial en los HSH. No se observó un efecto acumulativo ni interacciones en mujeres transexuales.

**Conclusiones.** El estudio resalta la necesidad de combinar programas de salud mental que aborden el abuso sexual infantil, el abuso de drogas y el consumo frecuente de alcohol con otros programas de prevención del HIV.

**Palabras clave:** “síndémico”; VIH; sexo inseguro; minorías sexuales y de género.

Men who have sex with men (MSM) and transgender women experience greater exposure than other populations to psychosocial health problems such as alcohol and drug use, depression, and different types of violence (1,2). Men who have sex with men and transgender women are the populations most affected by HIV in Colombia (3,4); a high prevalence of illicit drug use, frequent alcohol use, and early initiation of sexual relations have also been reported in these groups (5,6). A high prevalence of HIV-risk behaviors has also been found in heterosexual men of low socioeconomic status (7,8). Illicit drug use and alcohol abuse have been associated with HIV risk behaviors in these populations (9). Heterosexual men are usually a neglected group in HIV prevention programs in Colombia and other Latin American countries despite the increasing recognition of their role in the HIV epidemics (10,11).

Studies conducted in MSM and transgender women have shown that adverse psychosocial conditions can cluster or coexist (2) and their accumulation (number of exposures as a cumulative count) increases HIV risk and transmission (12). Researchers have also tested the interplay between psychosocial health problems on HIV risk. In a recent analysis of MSM in India, Tomori, *et al.*, found an interaction of frequent alcohol use and illicit drug use on the risk of syphilis and intimate partner violence and depression on unprotected anal sex (13). Chakaprani, *et al.*, also analyzed MSM from India and found both multiplicative and additive interactions of violence and frequent alcohol use on inconsistent condom use (14). These findings mean that the presence of both psychosocial factors confers more risk than the presence of one factor or no factors. These complex interactions relate to the notion of “syndemics,” a concept that has become widely used in HIV research and prevention (12,15).

The “syndemics” framework has been developed to study health conditions affecting populations that can be determined by their contextual factors, be them social, economic, or political. This framework highlights how the clustering and interactions of multiple adversities can amplify the negative impact of one or more other health problems (16) in a synergistic fashion. In strict terms, a synergistic effect C is larger than the sum of the effects A plus B. This amplification results where co-occurring outcomes (or health conditions) adversely impact one another: e.g., HIV infection is negatively affected by injection drug use and vice versa. Thus, unveiling the co-occurrence of psychosocial adverse conditions and establishing if they have synergistic (“syndemic”) impact on the health of non-MSM, MSM, and transgender women populations become highly important to define the type of interventions and population groups of higher priority (15).

To date, no study has approached HIV risk from the “syndemics” perspective in men of diverse gender/sexual orientation in Colombia. Therefore, this study uses the “syndemics” framework to investigate the effects of alcohol misuse, poly-drug use, sexual violence experience, and history of childhood sexual abuse on unprotected sex with three different categories of partners, namely, regular, occasional, and transactional. In transgender women, transactional sex is particularly important in HIV risk acquisition

and is related to greater exposure to psychosocial problems (17,18) and their accumulation (19). In MSM, the co-occurrence of psychosocial problems on transactional sex has been less explored despite the high risk of HIV among individuals engaged in transactional sex (20,21) and the associations found between experiences of childhood abuse and sexual violence with higher odds of reporting transactional sex (22).

We explored the following aspects:

- 1) Is there an association between the accumulation of psychosocial factors and unprotected sex?
- 2) Are there synergistic effects of the presence of two "syndemic" conditions on unprotected sex?, and,
- 3) Are there differences in these associations according to gender/sexual orientation?

We anticipated a higher prevalence of psychosocial factors in MSM and transgender women versus the non-MSM group. However, we hypothesized that the psychosocial factors had negative effects on unprotected sex across groups in either a synergistic or an additive fashion.

Materials and methods

### **Study setting**

The study was conducted in Cali, Colombia, a city with a population of over two million people located in southwestern Colombia. Cali is one of the cities with the fastest growing economy in Colombia and it is a key center for rural-urban migration, as well as a receptor of populations displaced by rural violence. A variety of race/ethnic groups populate Cali and approximately 23% are racial minorities (Afro-Colombians), most of whom are concentrated in low and middle-income neighborhoods. By 2016, Cali had high unemployment (15%) and casual employment (35%) rates and a violent death rate of (70/100,000) (23).

### **Recruitment**

Between 2012 and 2015, participants were recruited from individuals who attended a local HIV counseling and testing campaign. This campaign started by approaching community leaders from the targeted populations: MSM, transgender women, and non-MSM, who were asked to refer individuals whom they thought could benefit from HIV testing/counseling. Interested individuals were instructed to attend community sites where HIV counseling and testing were provided at no cost. At these sites, potential participants were invited to join the study. Informed consent was obtained from all individuals who agreed to participate.

This study focused on adult participants who self-identified as MSM, transgender women, and non-MSM. The study activities were conducted at twenty-two community centers, three sex work venues, and one HIV clinic. At each site, the research personnel applied a paper-based survey before providing HIV counseling and testing following a protocol as reported elsewhere (24). The survey was anonymous and was applied in a private room by a trained research assistant. The survey typically took 30 minutes to complete and collected data on sociodemographic characteristics, sexual risk behavior, other risky behaviors, HIV testing, history of sexually transmitted infections, and early sexual experience.

### Study measures

*Psychosocial conditions.* 1) History of childhood sexual abuse: We defined the history of childhood sexual abuse as the reporting of sexual activity at age 13 years or younger because in Colombia adults engaging in sexual activity with children younger than 14 years of age commit an abusive sexual act considered a criminal offense (25); 2) Recent history of forced sex was defined as any experience of sex without consent with any sexual partner in the last 12 months; 3) Frequent alcohol use was defined as the consumption of five or more alcoholic drinks in one single occasion more than once in a month, and 4) Use of illicit drugs, which was defined as the consumption of any drug in the last six months, injected or inhaled, from a list of seven options including marijuana, cocaine, *basuco* (cocaine-containing paste) poppers, hallucinogens, heroin, amphetamines, or stimulants. In total, 18% of the sample reported the use of one type of drug, 8% reported two drugs, and 5% reported three or more. Thus, drug use was analyzed as no drugs vs. one or more drugs.

*Main outcomes.* 1) Unprotected sex with regular partners was defined as the frequency of condom use (“most of the time,” “sometimes,” or “never”) with a partner of any sex living permanently with the participant; 2) Unprotected sex with transactional partners was defined as sex not always accompanied of condom use with a partner of any sex with whom they exchanged money or other benefits for sex; 3) Unprotected sex with occasional partners was defined as sex not always accompanied of condom use with a partner of any sex who was not regular or transactional. Transactional partners were infrequent among MSM and non-MSM; we analyzed this variable as a dichotomous outcome (having ever vs. never had a transactional partner in the last 12 months).

*Covariates.* Educational level (highest level of education completed), having health insurance, personal income (based on the minimum monthly wage for Colombia, i.e., USD\$ 308 at the time of the survey), history of incarceration and homelessness (defined as currently living on the streets). We also asked the participants to self-report their race/ethnicity. The definition of gender/sexuality was based on men’s self-report of MSM, transgender women, or non-MSM (men who reported themselves as heterosexual).

### Statistical analysis

We followed the analytical recommendations from Tsai, *et al.* (26). First, we explored the relationship of all psychosocial variables with each outcome in one model to test if their effect was independent of the presence of the other. Next, we tested if the ‘accumulation’ of psychosocial conditions was related to each of the outcomes for which we created an index summarizing the number of psychosocial problems experienced by each respondent. This “syndemic” index was analyzed as a dummy variable (26) with the reference point of having one psychosocial problem (given the low frequency of zero psychosocial conditions in transgender women). Next, we calculated the interaction effect of two psychosocial conditions on each outcome. We assessed the additive interaction using the relative excess risk due to interaction (RERI) or part of the total effect due to interaction (null value=0) (27) and we calculated the multiplicative interactions using the common approach of  $exposure_1 * exposure_2$  on the outcome.

The significance of the additive interactions was obtained using the ICP program in Stata™ (StataCorp LP, College Station Texas, USA). A Poisson analysis with robust variance was performed for all analyses (28).



## Results

The sample included 812 participants of whom 54.7% self-identified as MSM, 7.3% as transgender women, and 38.0% as non-MSM. More than half of the participants were younger than 25 years old, 18% were from racial minorities, 9% had low levels of education, and 64% had low income. Only 5.4% of the sample was homeless and 9% had experienced incarceration. MSM had more favorable social profiles than transgender women and non-MSM participants with higher levels of education, income, and health insurance (table 1). The non-MSM group was more likely to be homeless and experience incarceration than the other groups. Transgender women had the highest mean of accumulation of psychosocial conditions with more than half of the sample reporting drug use and frequent alcohol use (table 1). The non-MSM group was more likely to report unprotected sex with occasional and regular partners. Having commercial partners was highly prevalent among transgender women, 71% compared to 10.5% for the MSM, and 9% for the non-MSM.

**Table 1.** Description of the sample and comparison of social and psychosocial conditions by gender/sexual orientation

	TW n (%)	MSM n (%)	Non-MSM n (%)	p value
Age (years)				
Less than 25	20 (33.9)	236 (53.15)	174 (56.3)	<0.001
25-40	34 (57.6)	163 (36.71)	78 (25.2)	
>40	5 (8.47)	45 (10.1)	57 (18.5)	
Racial minority				
Afrocolombian or indigenous	18 (30.5)	56 (12.6)	82 (26.6)	<0.001
Highest educational attainment				
<11 years	12 (20.3)	10 (2.26)	54 (17.5)	<0.001
Affiliated to health insurance				
No	17 (29.3)	98 (22.4)	44 (14.6)	0.013
Monthly personal income				
Less than 1 minimum salary	36 (61.0)	259 (58.6)	224 (72.7)	<0.001
Homelessness				
Yes	3 (5.4)	6 (1.4)	34 (11.3)	<0.001
History of incarceration				
Yes	0 (0.0)	0 (0.0)	65 (23.6)	<0.001
Psychosocial conditions				
Childhood sexual abuse	31 (52.4)	91 (20.6)	115 (38.5)	< 0.001
Forced sex, yes	4 (6.9)	12 (2.8)	11 (3.6)	0.26
Frequent alcohol use, yes	40 (67.8)	158 (35.7)	112 (36.4)	<0.001
Illicit drug use, any	35 (59.3)	111 (25.3)	98 (32.2)	<0.001
Index of "syndemics", mean, SD	1.86, 0.79	0.88, 0.88	1.15, 0.93	<0.001
Number of psychosocial factors				< 0.001
0	3 (5.1)	176 (40.5)	83 (28.3)	
1	14 (23.7)	171 (39.3)	122 (41.6)	
2	30 (50.9)	68 (15.6)	63 (21.5)	
3 or 4	12 (20.3)	20 (4.6)	25 (8.5)	
Sexual risk behaviours				
Have regular partners	31 (52.5)	313 (70.5)	221 (71.5)	0.012
Unprotected sex with regular partners	21 (65.6)	212 (66.8)	197 (87.9)	<0.000
Have occasional partners	43 (72.8)	310 (69.8)	120 (38.8)	<0.000
Unprotected sex with occasional partners	17 (39.5)	127 (41.7)	81 (68.1)	<0.000
Have commercial partners/Transactional sex	42 (71.2)	47 (10.5)	28 (9.06)	<0.000
Unprotected sex with commercial partners	15 (34.8)	19 (38.7)	18 (50.0)	0.37
Unprotected sex, all partners	36 (61.1)	293 (68.1)	224 (85.8)	<0.000

TW: Transgender women; MSM: Men who have sex with men

Table 2 shows an analysis of the effects of all four psychosocial conditions on unprotected sex and transactional sex. Childhood sexual abuse and illicit drug use in MSM, and forced sex in transgender women were associated with unprotected sex with occasional partners. All four psychosocial conditions in MSM and frequent alcohol use in non-MSM increased the risk of transactional sex.

Table 3 presents the bivariate and multivariate analyses for the “syndemic” index. An increase in the number of psychosocial conditions was associated with greater unprotected sex with occasional partners and greater risk of transactional sex in MSM. In transgender women, the cumulative effect was not significant for any outcome. In the non-MSM, the accumulation index did not reach significance, but there was a trend towards an increase in transactional sex as the number of psychosocial conditions increased.

**Table 2.** Multivariate Poisson regression analysis showing effect of combined effects of psychosocial conditions on unprotected sex and transactional sex

	Unprotected sex with regular partner		Unprotected sex with occasional partners		Transactional sex	
	PR	CI95%	PR	CI95%	PR	CI95%
<b>Transgender women</b>						
Illicit drug use	1.50	0.81-2.78	0.72	0.35-1.49	0.99	0.70-1.40
Childhood sexual abuse	0.68	0.41-1.13	0.66	0.31-1.39	1.10	0.78-1.55
Frequent alcohol use	0.72	0.42-1.23	0.54	0.26-1.11	0.97	0.66-1.42
Forced sex	1.24	0.76-2.02	2.15	1.32-3.50	1.07	0.55-2.09
<b>Men who have sex with men</b>						
Illicit drug use	1.03	0.87-1.22	1.45	1.11-1.90	1.85	1.09-3.13
Childhood sexual abuse	1.14	0.96-1.35	1.32	1.00-1.90	2.45	1.47-4.10
Frequent alcohol use	0.83	0.70-0.99	1.04	0.79-1.36	2.52	1.45-4.40
Force sex	1.01	0.65-1.58	1.24	0.72-2.15	2.32	1.14-4.75
<b>Non men who have sex with men</b>						
Illicit drug use	1.02	0.92-1.14	1.14	0.87-1.50	1.18	0.55-2.55
Childhood sexual abuse	1.08	0.97-1.20	1.18	0.89-1.57	1.54	0.74-3.20
Frequent alcohol use	1.03	0.93-1.15	1.08	0.83-1.41	2.48	1.18-5.21
Forced sex	0.99	0.76-1.29	&		1.81	0.50-6.46

&: sample size did not allow calculations

PR: Prevalence ratio ; CI: Confidence intervals; MSM: men who have sex with men

**Table 3.** Multivariate Poisson regression of the accumulation of psychosocial conditions (syndemic index) on HIV related behaviors

Number of psychosocial conditions	Unprotected sex with regular partner		Unprotected sex with occasional partners		Transactional sex	
	PR univariate; CI 95%	PR <sup>&amp;</sup> ; CI95%	PR univariate; CI 95%	PR <sup>&amp;</sup> ; CI95%	PR univariate; CI 95%	PR <sup>&amp;</sup> ; CI95%
<b>TW</b>						
0	--		2.2; 1.14-4.23		0.93; 0.39-2.24	
1	ref		ref		ref	
2	1.41; 0.73-2.72		0.88; 0.37-2.06		0.98; 0.65-1.48	
3 and 4	1.0; 0.43-2.32		0.60; 0.18-1.94		1.05; 0.66-1.68	
<b>MSM</b>						
0	0.98; 0.82-1.17	0.96; 0.80-1.16	1.03; 0.73-1.44	1.01; 0.71-1.43	0.67; 0.29-1.53	0.73; 0.31-1.71
1	ref	ref	ref	ref	ref	ref
2	1.04; 0.84-1.28	1.08; 0.88-1.33	1.57; 1.11-2.22	1.58; 1.12-2.24	2.32; 1.11-4.83	2.44; 1.18-5.04
3 and 4	0.78; 0.48-1.28	0.76; 0.46-1.25	2.11; 1.45-3.06	2.10 <sup>*</sup> ; 1.42-3.09	7.89; 4.19-14.88	7.41; 3.79-14.46
<b>Non MSM</b>						
0	0.89; 0.77-1.04	0.89; 0.76-1.03	0.77; 0.50-1.17	0.73; 0.47-1.11	0.40; 0.12-1.40	0.33; 0.10-1.13
1	ref	ref	ref	ref	ref	ref
2	1.05; 0.95-1.16	1.08; 0.98-1.18	1.23; 0.94-1.60	1.23; 0.91-1.65	1.41; 0.60-3.33	1.64; 0.69-3.89
3 and 4	0.95; 0.78-1.16	0.95; 0.77-1.17	0.95; 0.61-1.49	0.86; 0.55-1.35	2.22; 0.84-5.83	2.18; 0.91-5.20

<sup>&</sup> All models adjusted by education, income, race/ethnicity, age, and health insurance.

Multivariate models for TW were not done because of the small size of the sample.

PR: Prevalence ratio; TW: Transgender women; MSM: men who have sex with men

Table 4 presents the analysis of interactions for MSM. Combinations with forced sex were not calculated due to the presence of empty cells. If the hypothesis of “syndemics” is true, we would observe a greater risk of unprotected sex (or commercial sex) with the presence of two psychosocial conditions, a significant positive RERI, and/or a significant multiplicative interaction. For unprotected sex with regular partners, most of the RERI showed a negative sign but none of the interactions examined were significant. For unprotected sex with occasional partners, the three combinations tested were significant as shown by the PR values in table 4, but only the combination of childhood sexual abuse with alcohol abuse showed a significant multiplicative interaction. For engagement in transactional sex, all three combinations were significant with PR greater than 6 and interactions were significant in an additive scale with RERIs greater than or equal to 4 (table 4).

Table 5 presents the analysis of interactions for non-MSM. There was no clear trend to an increased risk of unprotected sex with combinations of psychosocial conditions. The combination of childhood sexual abuse and frequent alcohol increased the risk of transactional sex (PR=4.2) and the RERI was positive, although non-significant. None of the multiplicative interactions were significant.

In transgender women, none of the interactions were significant (data not shown).

**Table 4.** Poisson regressions showing the combined effect of two psychosocial conditions on the three outcomes in MSM: Additive and multiplicative interactions, testing of syndemics

Psychosocial conditions		Unprotected sex with occasional partners/ PR (CI95%)	Transactional sex/ PR (CI95%)	Unprotected sex with regular partner/ PR (CI95%)
Childhood sexual abuse	Frequent alcohol use			
No	No	ref	ref	ref
Yes	No	1.05 (0.69-1.60)	1.95 (0.71-5.29)	1.18(0.98-1.43)
No	Yes	0.86 (0.59-1.23)	2.18 (1.02-4.64)	0.86 (0.71-1.05)
Yes	Yes	1.67 (1.22-2.27)	7.6 (3.88-14.89)	0.93 (0.69-1.26)
RERI		0.76 (0.13-1.38)	4.47 (0.46;8.48)	-0.11 (-0.48;0.24)
Multiplicative interaction, p value		0.036	0.33	0.62
Childhood sexual abuse	Illicit drug use			
No	No	ref	ref	ref
Yes	No	1.42 (0.98-2.06)	1.83 (0.80-4.19)	1.21 (1.00-1.48)
No	Yes	1.55 (1.10-2.17)	1.38 (0.59-3.17)	1.08 (0.88-1.32)
Yes	Yes	1.88 (1.31-2.68)	6.15 (3.37-11.22)	1.06 (0.79-1.42)
RERI		-0.10 (-0.94;0.74)	3.94 (0.71-7.17)	-0.24 (-0.65-0.17)
Multiplicative interaction, p value		0.55	0.13	0.24
Illicit drug use	Frequent alcohol use			
No	No	ref	ref	ref
Yes	No	1.36 (0.94-1.94)	1.38 (0.50-3.77)	1.11 (0.92-1.34)
No	Yes	0.97 (0.67-1.40)	2.10 (0.98-4.44)	0.88 (0.72-1.08)
Yes	Yes	1.78 (1.28-2.48)	6.62 (3.39-12.9)	0.84 (0.62-1.13)
RERI		0.45 (-0.22;1.12)	4.14 (0.71-7.57)	-0.16 (-0.51;0.18)
Multiplicative interaction, p value		0.27	0.17	0.39

\* significant p<0.05

**Table 5.** Poisson regressions showing the combined effect of two psychosocial conditions on the three outcomes in non-MSM: Additive and multiplicative interactions, testing of syndemics

Psychosocial conditions		Unprotected sex with occasional partners/ PR (CI95%)	Transactional sex/ PR (CI95%)	Unprotected sex with regular partner/ PR (CI95%)
Childhood sexual abuse	Frequent alcohol use			
No	No	ref		
Yes	No	1.50 (1.04-2.25)	1.62 (0.51-5.13)	1.17 (1.03-1.32)
No	Yes	1.38 (0.94-2.03)	2.59 (0.90-7.44)	1.12 (0.97-1.28)
Yes	Yes	1.22 (0.76-1.96)	4.32 (1.46-12.77)	1.06 (0.88-1.28)
RERI		-0.66 (-1.45;0.12)	1.10 (-2.40;4.61)	-0.22 (-0.46;0.01)
Multiplicative interaction, p value		0.058	0.97	0.05
Childhood sexual abuse	Illicit drug use			
No	No	ref	ref	ref
Yes	No	1.02 (0.67-1.53)	1.33 (0.50-3.51)	1.07 (0.94-1.22)
No	Yes	1.06 (0.69-1.62)	1.28 (0.42-3.98)	1.03 (0.87-1.21)
Yes	Yes	1.36 (1.02-1.81)	1.89 (0.76-4.71)	1.09 (0.96-1.24)
RERI		0.28 (-0.30;0.86)	0.27 (-1.81;2.36)	-0.01 (-0.23;0.20)
Multiplicative interaction, p value		0.42	0.89	0.89
Illicit drug use	Frequent alcohol use			
No	No	ref	ref	ref
Yes	No	1.48 (1.08-2.01)	2.33 (0.78-6.92)	1.06 (0.94-1.21)
No	Yes	1.20 (0.82-1.73)	3.21 (1.21-8.49)	1.05 (0.92-1.19)
Yes	Yes	1.22 (0.84-1.78)	3.37 (1.14-9.90)	1.05 (0.90-1.22)
RERI		-0.45 (-1.09;0.19)	-1.17(-5.12;2.78)	-0.06 (-0.28; 0.15)
Multiplicative interaction, p value		0.14	0.27	0.53

\* significant p&lt;0.05

## Discussion

Our study helps better understand the effects of accumulation of and the interactions between psychosocial conditions on unprotected sex and transactional sex in a diverse sample from Colombia. For the first time in a sample of MSM, transgender women, and non-MSM from Colombia, we tested the “syndemics” framework using 1) the traditional analytic approach of adding the presence of psychosocial conditions and examined their effects on HIV risk behaviors, and 2) two analytical approaches to assess interactions of combinations of psychosocial conditions. Our results highlight the differences across the sample that have important implications for future interventions to address the HIV epidemic in Colombia, as summarized below.

### Findings in MSM

Our findings add to the existing research demonstrating that psychosocial conditions increase the possibility of engaging in HIV risk behaviors in MSM (3,29). Drug use was highly frequent in the sample related to unprotected and transactional sex. The importance of illicit drug use in driving the epidemic of HIV in MSM is well established and our study reinforces these findings (30). The role of early life adversities, particularly violent experiences, its high frequency, and its effects on unprotected and transactional sex in MSM in our sample have also been reported in Colombia and other populations (22,31). Forced sex, on the contrary, was reported by a low proportion of the sample with no differences between the groups; it was not related to unprotected sex

but was more likely to be present in those who engaged in transactional sex similarly to reports from other authors (22,32). Alcohol abuse has been related to less protected sex in other studies including some from Colombia (6,33) and in our sample, it was related to greater engagement in transactional sex among MSM.

Given the importance of all psychosocial conditions on outcomes in MSM, it is not surprising that the accumulation of psychosocial conditions increased the risk of unprotected sex with occasional partners, which is consistent with most of the published literature in these populations (34,35). The risk of engagement in transactional sex also increases with the accumulation of psychosocial conditions, a novel finding of our study for MSM populations. Approximately 10% of MSM have engaged in transactional sex, consistent with other estimations in Latin American MSM (7%) (22).

Of special relevance is the finding of synergistic (or "syndemic") effects of combinations of psychosocial conditions on unprotected sex and engagement in transactional sex. The risk of unprotected sex with occasional partners increases when both CSA and frequent alcohol use occur together. Chakapri, *et al.* also reported multiplicative interaction effects of the experience of violence and alcohol use on unprotected sex in MSM in India (14). We also found synergistic effects for all combinations with childhood sexual abuse, drug use, and frequent alcohol use on transactional sex. We are unaware of other studies reporting similar findings. The fact that some of these psychosocial conditions act synergistically in increasing risky behaviors suggests that even a single intervention, in this case addressing childhood sexual abuse, could greatly reduce engagement in unprotected sex and transactional sex in MSM, even if the other factors are not considered (15). The "syndemics" framework claims that clustering and interaction between psychosocial conditions are tied to structural factors. Our findings, then, should be understood as a consequence of structural violence (lack of legal protection) (36), social inequities (i.e., unemployment, poverty) (22), and minority stress (greater exposure to discrimination and prejudice) (37) suffered by MSM populations.

From a public health perspective, our findings emphasize the harmful effects of sexual abuse during childhood (31), a critical period for the development of sexual and other health behavior preferences that, if adverse, as is the case of abuse, could lead to higher alcohol abuse, illicit drug use, and violence. This and other experiences of violence throughout life should be addressed and prevented by public health programs and child protection policies. If others confirm the synergistic effects found in our study, acting on experiences of abuse and violence could help prevent HIV cases through their effects in reducing unprotected and transactional sex.

### ***Findings in transgender women***

In our sample of transgender women, 62% engaged in unprotected sex, a figure consistent with another report in a larger Colombian sample (38). Childhood sexual abuse, illicit drug use, and alcohol misuse were reported frequently by transgender women, factors that have been related to greater HIV risk behaviors in transgender women elsewhere (19,39). We found only one factor, forced sex, to be related to unprotected sex. Transgender women could have less power to negotiate condom use in abusive relationships. Having transactional partners was also frequently reported (71%) and, in this case, none of the psychosocial conditions was related to this behavior. Our findings contrast with those of other studies in transgender women from

North America, India, and Jamaica (19,35,40) relating the accumulation of psychosocial adversities to greater HIV risk behaviors.

Two factors may have contributed to this lack of results in the direction expected. One is the small sample size. Recruitment of transgender women has always been difficult in Cali as the level of trust in health organizations is poor there (Héctor Mueses, personal communication). We have used community leaders to reach transgender women but even with their enthusiastic assistance, our recruitment was low. In another sample of Latin American transgender women, sample sizes have been over 100 participants while our sample size was 59 (39). The other aspect is related to the psychosocial experiences inquired in our survey. Ours was an exploratory study conducted in the context of HIV testing/counseling campaigns. Hence, we felt that in this scenario it was not feasible to inquire more in detail about violence, discrimination, or mental health conditions. In future studies, it would be important to focus specifically on mental health problems, criminalization, social exclusion, and violence displacement as additional psychosocial problems driving HIV risk among transgender women in Colombia (2,18,41).

### ***Findings in non-MSM populations***

In the case of non-MSM, this study reached a high-risk population not usually targeted for HIV testing or other prevention campaigns. This population lives in poverty, is poorly educated, and one-third of them are racial minorities (Afro-Colombians and aboriginals). Approximately 68% engage in occasional relations with no condom use, the accumulation of psychosocial conditions was even higher than among MSM and apparently associated with higher engagement in transactional sex. As non-MSM could serve as a bridge for HIV and sexually transmitted infection transmission to heterosexual women or bisexual men (11), we suggest that non-MSM with low socioeconomic status should be also prioritized for HIV prevention interventions (11). It seems that targeting alcohol abuse would be an effective strategy to reduce the risk of unprotected sex in non-MSM.

### ***Strengths and limitations***

Our study is one of the few using the “syndemics” theory to compare HIV risk in groups of diverse gender and sexual preference (42). The regular collection of data on HIV and risk behaviors among high-risk populations is not done in Colombia (43). The lack of surveillance of behavioral data among high-risk groups may prevent the optimal development and implementation of public health interventions. Our group has taken this initiative and our results point out important implications for the development of HIV prevention programs. We recognize that this study has limitations. The sample was not probabilistic and estimates may not be generalized; participants were a self-selected sample likely based on their perception of risk, knowledge, and experiences of stigma and discrimination related to HIV testing. The MSM sample was captured through leaders of the MSM community and may reflect a selected group with more favorable psychosocial conditions. Our estimates are, however, close to those found using respondent-driven sampling methods with larger samples in Colombia (3).

Unfortunately, our sample was underpowered to compare experiences of transgender women and larger samples will be needed for this purpose. Also, our analyses rely on cross-sectional data. In this regard, there is a need for longitudinal studies and intervention trials that allow testing the temporality

of psychosocial condition effects, mediation effects, and interactions on the incidence of HIV and risk behaviors (44).

### **Implications of the results**

From a research perspective, our study strongly argues that the "syndemics" theory is a more suitable approach to test the synergistic effects of psychosocial conditions on HIV risk given the multifactorial and complex nature of this problem. Expanding the range and quality of the psychosocial conditions assessed and identifying populations at risk of HIV through drug and alcohol-related venues is also required. Our findings revealed the importance of identifying and addressing mental health (illicit drug use, alcohol use) among MSM, transgender women, and non-MSM (31). Interventions using community-based or empowerment theories that have been effective in other populations could be adapted in Colombia and other Latin American countries with similar problems.

### **Acknowledgments**

We are indebted to all the participants in the HIV counseling and testing campaigns in Cali and to the *Corporación de Lucha contra el SIDA*, which funded this project. We are also deeply grateful to the community leaders and team members for their invaluable assistance. This study was reviewed and approved by the Institutional Review Board of the CLS (IRB 00005732 of the U.S. DHHS; approval letter N° 022).

### **References**

1. González CA, Gallego JD, Bockting WO. Demographic characteristics, components of sexuality and gender, and minority stress and their associations to excessive alcohol, cannabis, and illicit (non-cannabis) drug use among a large sample of transgender people in the United States. *J Prim Prev.* 2017;38:419-45. <https://doi.org/10.1007/s10935-017-0469-4>
2. Poteat T, Scheim A, Xavier J, Reisner S, Baral S. Global epidemiology of HIV infection and related syndemics affecting transgender people. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016;72(Suppl.3):S210-9. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000001087>
3. Rubio-Mendoza ML, Jacobson JO, Morales-Miranda S, Sierra-Alarcón CA, Luque-Núñez R. High HIV burden in men who have sex with men across Colombia's largest cities: Findings from an integrated biological and behavioral surveillance study. *PLoS One.* 2015;10:e0131040. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131040>
4. Cáceres CF. HIV among gay and other men who have sex with men in Latin America and the Caribbean: A hidden epidemic? *AIDS.* 2002;16(Suppl.3):S23-33.
5. Rocha GM, Kerr LR, de Brito AM, Dourado I, Guimaraes MD. Unprotected receptive anal intercourse among men who have sex with men in Brazil. *AIDS and behavior.* 2013;17:1288-95. <https://doi.org/10.1007/s10461-012-0398-4>
6. Zea MC, Reisen CA, del Río-González AM, Bianchi FT, Ramírez-Valles J, Poppen PJ. HIV prevalence and awareness of positive serostatus among men who have sex with men and transgender women in Bogotá, Colombia. *Am J Public Health.* 2015;105:1588-95. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2014.302307>
7. Miguez-Burbano MJ, de Pool I, Hadrigan S, Jackson J Jr., Angarita I, Then EP, *et al.* HIV knowledge and risk behaviors among women in law enforcement in Bogotá, Colombia: Potential role as community educators. *J Urban Health.* 2005;82(Suppl.4):iv43-57. <https://doi.org/10.1093/jurban/jti107>
8. Miguez-Burbano MJ, Page JB, Angarita I, Rodríguez N, Baum MK, Burbano X, *et al.* High-risk behaviours in men from Bogotá, Colombia and the spread of HIV. *Int J STD AIDS.* 2001;12:739-43. <https://doi.org/10.1258/0956462011924245>
9. Batchelder AW, Lounsbury DW, Palma A, Carrico A, Pachankis J, Schoenbaum E, *et al.* Importance of substance use and violence in psychosocial syndemics among women with and at-risk for HIV. *AIDS Care.* 2016;28:1316-20. <https://doi.org/10.1080/09540121.2016.1173637>

10. Leal AF, Knauth DR, Couto MT. The invisibility of heterosexuality in HIV/AIDS prevention for men. *Rev Bras Epidemiol.* 2015;18(Suppl.1):143-55. <https://doi.org/10.1590/1809-4503201500050011>
11. Cáceres CF, Konda KA, Salazar X, León SR, Klausner JD, Lescano AG, *et al.* New populations at high risk of HIV/STIs in low-income, urban coastal Perú. *AIDS Behav.* 2008;12:544-51. <https://doi.org/10.1007/s10461-007-9348-y>
12. Tsai AC, Burns BF. Syndemics of psychosocial problems and HIV risk: A systematic review of empirical tests of the disease interaction concept. *Soc Sci Med.* 2015;139:26-35. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2015.06.024>
13. Tomori C, McFall AM, Solomon SS, Srikrishnan AK, Anand S, Balakrishnan P, *et al.* Is there synergy in syndemics? Psychosocial conditions and sexual risk among men who have sex with men in India. *Soc Sci Med.* 2018;206:110-6. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2018.03.032>
14. Chakrapani V, Lakshmi M, Tsai AC, Vijin PP, Kumar P, Srinivas V. The syndemic of violence victimisation, drug use, frequent alcohol use, and HIV transmission risk behaviour among men who have sex with men: Cross-sectional, population-based study in India. *SSM Popul Health.* 2019;7:100348. <https://doi.org/10.1016/j.ssmph.2018.100348>
15. Tsai AC, Mendenhall E, Trostle JA, Kawachi I. Co-occurring epidemics, syndemics, and population health. *Lancet.* 2017;389:978-82. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30403-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30403-8)
16. Singer MC, Erickson PI, Badiane L, Diaz R, Ortiz D, Abraham T, *et al.* Syndemics, sex and the city: Understanding sexually transmitted diseases in social and cultural context. *Soc Sci Med.* 2006;63:2010-21. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2006.05.012>
17. Logie CH, Wang Y, Lacombe-Duncan A, Jones N, Ahmed U, Levermore K, *et al.* Factors associated with sex work involvement among transgender women in Jamaica: A cross-sectional study. *J Int AIDS Soc.* 2017;20:21422. <https://doi.org/10.7448/IAS.20.01/21422>
18. Zimmerman RS, Benotsch EG, Shoemaker S, Snipes DJ, Cathers L, Perrin PB, *et al.* Mediation models linking psychosocial context, mental health problems, substance use, and HIV risk behaviors in transgender women. *Health Psychology and Behavioral Medicine.* 2015;3:379-90. <https://doi.org/10.1080/21642850.2015.1093423>
19. Parsons JT, Antebi-Gruszka N, Millar BM, Cain D, Gurung S. Syndemic conditions, HIV transmission risk behavior, and transactional sex among transgender women. *AIDS Behav.* 2018;22:2056-67. <https://doi.org/10.1007/s10461-018-2100-y>
20. Oldenburg CE, Pérez-Brumer AG, Reisner SL, Mattie J, Barnighausen T, Mayer KH, *et al.* Global burden of HIV among men who engage in transactional sex: A systematic review and meta-analysis. *PloS One.* 2014;9:e103549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103549>
21. Oldenburg CE, Pérez-Brumer AG, Reisner SL, Mimiaga MJ. Transactional sex and the HIV epidemic among men who have sex with men (msm): Results from a systematic review and meta-analysis. *AIDS Behav.* 2015;19:2177-83. <https://doi.org/10.1007/s10461-015-1010-5>
22. Oldenburg CE, Pérez-Brumer AG, Biello KB, Landers SJ, Rosenberger JG, Novak DS, *et al.* Transactional sex among men who have sex with men in Latin America: Economic, sociodemographic, and psychosocial factors. *Am J Public Health.* 2015;105:e95-e102. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2014.302402>
23. Alcaldía de Santiago de Cali. Cali en cifras 2016. Accessed: June 3rd., 2019. Available from: <http://www.cali.gov.co/planeacion/publicaciones/137801/libro-cali-en-cifras-inicio/>
24. Galindo-Quintero J, Mueses-Marin HF, Montano-Agudelo D, Pinzón-Fernández MV, Tello-Bolívar IC, Alvarado-Llano BE, *et al.* HIV Testing and counselling in Colombia: Local experience on two different recruitment strategies to better reach low socioeconomic status communities. *AIDS Res Treat.* 2014;2014:803685. <https://doi.org/10.1155/2014/803685>
25. Congreso de Colombia. Ley 599 de 2000. Bogotá: Congreso de Colombia; 2000.
26. Tsai AC, Venkataramani AS. Syndemics and health disparities: A methodological note. *AIDS Behav.* 2016;20:423-30. <https://doi.org/10.1007/s10461-015-1260-2>
27. van der Weele TJ, Vansteelandt S. Some advantages of the relative excess risk due to interaction (RERI)—towards better estimators of additive interaction. *Am J Epidemiol.* 2014;179:670-1. <https://doi.org/10.1093/aje/kwt316>
28. Barros AJ, Hirakata VN. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: An empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. *BMC Med Res Methodol.* 2003;3:21. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-3-21>



29. Mimiaga MJ, Biello KB, Robertson AM, Oldenburg CE, Rosenberger JG, O'Cleirigh C, *et al.* High prevalence of multiple syndemic conditions associated with sexual risk behavior and HIV infection among a large sample of Spanish- and Portuguese-speaking men who have sex with men in Latin America. *Arch Sex Behav.* 2015;44:1869-78. <https://doi.org/10.1007/s10508-015-0488-2>
30. García PJ, Bayer A, Carcamo CP. The changing face of HIV in Latin America and the Caribbean. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2014;11:146-57. <https://doi.org/10.1007/s11904-014-0204-1>
31. Mimiaga MJ, Noonan E, Donnell D, Safren SA, Koenen KC, Gortmaker S, *et al.* Childhood sexual abuse is highly associated with HIV risk-taking behavior and infection among MSM in the EXPLORE Study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;51:340-8. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181a24b38>
32. Logie CH, Lacombe-Duncan A, Kenny KS, Levermore K, Jones N, Baral SD, *et al.* Social-ecological factors associated with selling sex among men who have sex with men in Jamaica: Results from a cross-sectional tablet-based survey. *Glob Health Action.* 2018;11:1424614. <https://doi.org/10.1080/16549716.2018.1424614>
33. Mueses HF, Pinzón MV, Tello IC, Rincón-Hoyos HG, Galindo J. HIV and risk behaviors of persons of low socio-economic status, Popayán-Colombia (2008-2009). *Colomb Med (Cali).* 2013;44:7-12. <https://doi.org/10.25100/cm.v44i1.932>
34. Mimiaga MJ, O'Cleirigh C, Biello KB, Robertson AM, Safren SA, Coates TJ, *et al.* The effect of psychosocial syndemic production on 4-year HIV incidence and risk behavior in a large cohort of sexually active men who have sex with men. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2015;68:329-36. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000000475>
35. Chakrapani V, Newman PA, Shunmugam M, Logie CH, Samuel M. Syndemics of depression, alcohol use, and victimisation, and their association with HIV-related sexual risk among men who have sex with men and transgender women in India. *Global Public Health.* 2017;12:250-65. <https://doi.org/10.1080/17441692.2015.1091024>
36. Oldenburg CE, Pérez-Brumer AG, Reisner SL, Mayer KH, Mimiaga MJ, Hatzenbuehler ML, *et al.* Human rights protections and HIV prevalence among MSM who sell sex: Cross-country comparisons from a systematic review and meta-analysis. *Global Public Health.* 2018;13:414-25. <https://doi.org/10.1080/17441692.2016.1149598>
37. Meyer IH. Minority stress and mental health in gay men. *J Health Soc Behav.* 1995;36:38-56.
38. Proyecto VIH Fondo Mundial. Resultados del estudio comportamiento sexual y prevalencia de la infección por VIH en mujeres trans en cuatro ciudades de Colombia, 2012. Bogotá: Mecanismo de Coordinación de País-MCP Colombia; 2013.
39. Silva-Santisteban A, Raymond HF, Salazar X, Villayzan J, Leon S, McFarland W, *et al.* Understanding the HIV/AIDS epidemic in transgender women of Lima, Perú: Results from a sero-epidemiologic study using respondent driven sampling. *AIDS Behav.* 2012;16:872-81. <https://doi.org/10.1007/s10461-011-0053-5>
40. Brennan J, Kuhns LM, Johnson AK, Belzer M, Wilson EC, Garofalo R. Syndemic theory and HIV-related risk among young transgender women: The role of multiple, co-occurring health problems and social marginalization. *Am J Public Health.* 2012;102:1751-7. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2011.300433>
41. Bianchi FT, Reisen CA, Zea MC, Vidal-Ortiz S, Gonzáles FA, Betancourt F, *et al.* Sex work among men who have sex with men and transgender women in Bogotá. *Arch Sex Behav.* 2014;43:1637-50. <https://doi.org/10.1007/s10508-014-0260-z>
42. Tsuyuki K, Pitpitan EV, Levi-Minzi MA, Urada LA, Kurtz SP, Stockman JK, *et al.* Substance use disorders, violence, mental health, and HIV: Differentiating a syndemic factor by gender and sexuality. *AIDS Behav.* 2017;21:2270-82. <https://doi.org/10.1007/s10461-017-1841-3>
43. Arrivillaga M, Hoyos PA, Tovar LM, Varela MT, Correa D, Zapata H. HIV testing and counselling in Colombia: Evidence from a national health survey and recommendations for health-care services. *Int J STD AIDS.* 2012;23:815-21. <https://doi.org/10.1258/ijsa.2012.011468>
44. Stall R, Coulter RW, Friedman MR, Plankey MW. Commentary on "Syndemics of psychosocial problems and HIV risk: A systematic review of empirical tests of the disease interaction concept" by A. Tsai and B. Burns. *Soc Sci Med.* 2015;145:129-31. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2015.07.016>

Comunicación breve

## Los patrones electroforéticos de proteínas salivales permiten diferenciar los grupos transandino y cisandino de las especies de *Rhodnius* de Colombia

Arlid Meneses, Cristian Camilo Rodríguez, Yazmín Suárez, Julio César Carranza, Gustavo Adolfo Vallejo

Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

**Introducción.** Las especies *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) están conformadas por insectos hematófagos vectores de *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, y *T. rangeli*, parásito infectivo pero no patógeno para el vertebrado. El estudio de la diversidad proteica de la saliva de estos insectos permite la obtención de perfiles electroforéticos unidimensionales característicos de algunas especies de triatomíneos. Sin embargo, el reporte de los patrones electroforéticos de proteínas salivales de las especies de *Rhodnius* ha sido escaso.

**Objetivo.** Hacer un análisis comparativo de los perfiles electroforéticos unidimensionales de las proteínas salivales de *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *R. prolixus* y *R. robustus*.

**Materiales y métodos.** Se obtuvieron los perfiles electroforéticos de la saliva de las especies en estudio mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*, SDS-PAGE) y se construyó un fenograma mediante el método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages*).

**Resultados.** Los perfiles electroforéticos de las proteínas solubles de saliva presentaron bandas en un rango de masa aproximado de 15 a 45 kDa, los cuales permitieron diferenciar las cinco especies estudiadas. El fenograma reveló la existencia de dos grupos principales: uno conformado por los grupos cisandinos *Pictipes* y *Prolixus* y otro constituido por el grupo transandino *Pallescens*.

**Conclusiones.** Existen diferencias en los perfiles electroforéticos de las proteínas salivales entre *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *R. prolixus* y *R. robustus*, cuya variabilidad permitió construir un fenograma congruente con los grupos del género *Rhodnius*.

**Palabras clave:** *Rhodnius*; proteínas y péptidos salivales; electroforesis en gel de poliacrilamida.

### Salivary proteins electrophoretic patterns enabled differentiating Colombian *Rhodnius* Trans-Andean and Cis-Andean groups.

**Introduction:** *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) species are made up of haematophagous insect vectors for *Trypanosoma cruzi* (Chagas' disease aetiological agent) and *T. rangeli*, an infective parasite that is not pathogenic for vertebrate hosts. The study of their salivary protein diversity enables the obtention of characteristic one-dimensional electrophoretic profiles of some triatomine species; however, few reports have dealt with *Rhodnius* species salivary proteins electrophoretic patterns.

**Objective:** To compare *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *R. prolixus*, and *R. robustus*' salivary proteins one-dimensional electrophoretic profiles.

**Materials and methods:** SDS-PAGE was used for obtaining electrophoretic profiles of saliva from the species under study. The unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) was used for constructing a phenogram.

**Results:** Electrophoretic profiles of soluble saliva had protein bands ranging from 15 to 45 kDa, thereby enabling the five species studied to be differentiated. The phenogram revealed two main groups, one formed by the *Pictipes* and *Prolixus* cis-Andean groups and another consisting of the *Pallescens* trans-Andean group.

**Conclusion:** Differences were revealed regarding *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *R. prolixus*, and *R. robustus* electrophoretic profiles of salivary proteins; their variability facilitated constructing a phenogram which was taxonomically congruent with the groups from the genus *Rhodnius*.

**Keywords:** *Rhodnius*; salivary proteins and peptides; electrophoresis, polyacrylamide gel.

El género *Rhodnius* está compuesto por 21 especies de insectos hematófagos, muchas de ellas indistinguibles morfológicamente entre sí (1,2). Todas las especies de este género son vectores de *Trypanosoma*

**Recibido:** 08/04/2019

**Aceptado:** 27/11/2019

**Publicado:** 04/12/2019

#### Citación:

Meneses A, Rodríguez CC, Suárez Y, Carranza JC, Vallejo GA. Los patrones electroforéticos de proteínas salivales permiten diferenciar los grupos transandino y cisandino de las especies de *Rhodnius* de Colombia. *Biomédica*. 2020;40:404-11. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4992>

#### Correspondencia:

Gustavo Adolfo Vallejo, Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical, Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima, apartado aéreo 546, Ibagué, Colombia  
Teléfono: (578) 277 1212, extensión 9348  
[gvallejo@ut.edu.co](mailto:gvallejo@ut.edu.co)

#### Contribución de los autores:

Arlid Meneses: obtención de muestras, trabajo de laboratorio, análisis de datos y revisión de resultados  
Cristian Camilo Rodríguez: trabajo de laboratorio  
Yazmín Suárez: orientación del trabajo de laboratorio y análisis de datos  
Julio César Carranza: orientación del trabajo de laboratorio y revisión de resultados  
Gustavo Adolfo Vallejo: análisis de datos y revisión de resultados  
Todos los autores participaron en la elaboración del manuscrito.

#### Financiación:

Este trabajo fue financiado por el Fondo de Investigaciones de la Universidad del Tolima, proyecto No. 320120516.

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

*cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas, y de *T. rangeli*, el cual es infeccioso, pero no patógeno para los vertebrados (3,4). Aunque *T. rangeli* podría encontrarse en el intestino de cualquier triatomino, solo en las especies de *Rhodnius* logran infectar las glándulas salivales. Se les considera como los vectores biológicos de este parásito y se ha observado que algunos de sus genotipos son patógenos para algunas especies de *Rhodnius* (4).

Debido a sus características morfológicas, de comportamiento, biogeográficas y genéticas, el género *Rhodnius* parece ser un taxón monofilético compuesto por tres grupos: el grupo Prolixus, integrado por *R. barreti*, *R. dalessandroi*, *R. domesticus*, *R. milesi*, *R. marabaensis*, *R. montenegrensis*, *R. nasutus*, *R. neglectus*, *R. prolixus* y *R. taquarusuensis*; el grupo Pictipes, conformado por *R. amazonicus*, *R. brethesi*, *R. paraensis*, *R. pictipes*, *R. stali* y *R. zeledoni*, y el grupo Pallescens, del cual hacen parte *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis* y *R. pallescens*. Los grupos Prolixus y Piptipes se distribuyen al oriente de la cordillera de los Andes y se les denomina cisandinos, en tanto que el grupo Pallescens se encuentra al occidente de la cordillera de los Andes y recibe el nombre de transandino (5-9).

En estudios previos se ha reportado que con el perfil electroforético de las hemoproteínas (nitroforinas) se pueden diferenciar las especies fenotípicamente similares (10-12). Asimismo, se ha evidenciado que los patrones electroforéticos de las proteínas salivales solubles bajo condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE) permiten diferenciar entre especies de triatominos (13-15). Sin embargo, la información disponible sobre los perfiles electroforéticos unidimensionales de la saliva de las especies de *Rhodnius* es limitada.

Por esta razón, en el presente estudio se hizo un análisis comparativo de los perfiles electroforéticos bajo condiciones desnaturizantes de proteínas salivales solubles de *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *R. prolixus* y *R. robustus*.

## Materiales y métodos

Las glándulas salivales se obtuvieron a partir de la disección de ninfas de quinto estadio ( $N_5$ ) de colonias de *R. colombiensis*, *R. prolixus*, *R. pallescens*, *R. pictipes* y *R. robustus* establecidas en el insectario del Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical de la Universidad del Tolima (cuadro 1). Se emplearon como mínimo 10 ejemplares de cada especie en cada réplica biológica y ensayo electroforético.

**Cuadro 1.** Colonias de las especies de *Rhodnius* empleadas según su procedencia

Especie	Procedencia	Ambiente de captura
<i>R. colombiensis</i>	Chaparral, Tolima	Silvestre
	Coyaima, Tolima	Silvestre
	Ibagué, Tolima	Silvestre
	Icononzo, Tolima	Silvestre
	Líbano, Tolima	Silvestre
<i>R. pallescens</i>	San Sebastián de Buenavista, Magdalena	Silvestre
<i>R. pictipes</i>	Amazonas, municipio desconocido	Silvestre
<i>R. prolixus</i>	Boyacá, municipio desconocido	Doméstico
	Coyaima, Tolima	Doméstico
	Medina, Cundinamarca	Doméstico
	Santander, municipio desconocido	Doméstico
	Sierra Nevada de Santa Marta, Magdalena	Doméstico
<i>R. robustus</i>	Villanueva, Casanare	Silvestre
	Puerto Asís, Putumayo	Silvestre

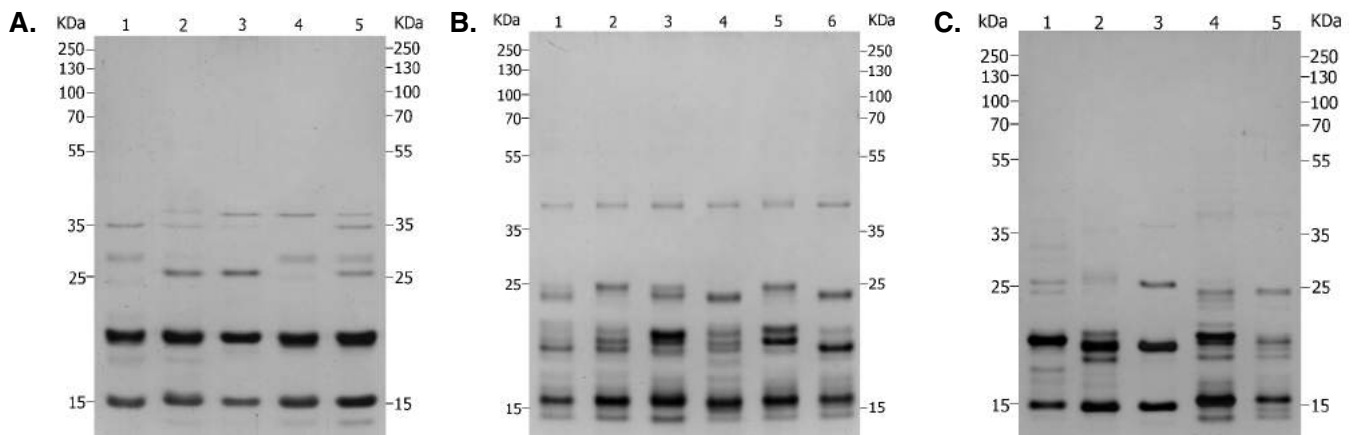
Después de la disección, las glándulas se lavaron tres veces en solución fisiológica fría (NaCl 0,9 %), se recolectaron en un microtubo en cama de hielo y se suspendieron de nuevo en solución fisiológica fría en una proporción de 2  $\mu$ l por cada par de glándulas. Para permitir la extravasación de la saliva, las glándulas se perforaron con un alfiler entomológico, se centrifugaron a 9.000 r.p.m. durante 5 minutos a 4 °C y el sobrenadante se transfirió a un nuevo microtubo. La concentración de proteínas solubles totales se determinó por espectrofotometría mediante el método de Bradford (16).

Se empleó 1  $\mu$ g de proteína salival soluble para cada electroforesis y estas se corrieron en geles de resolución de poliacrilamida al 12 % acoplados a un gel de 5 % de concentración usando el sistema Mini PROTEAN Tetra Cell™ (Bio-Rad). El corrido electroforético se hizo a 90 V empleando tampón de Tris-glicina (Tris, 25 mM, glicina, 192 mM, SDS 0,1 % p/v) durante 2 horas. Los geles se colorearon con nitrato de plata (17,18). Con el objetivo de comprobar la reproducibilidad del polimorfismo observado en la saliva de *R. prolixus*, se hicieron seis réplicas biológicas con sus respectivos geles electroforéticos, en tanto que para las demás especies se hicieron tres.

Los geles de SDS-PAGE se digitalizaron empleando un fotodocumentador Gel Doc XR+System™ (Bio-Rad). Los pesos moleculares de las bandas de proteínas visualizadas se calcularon con el programa Image Lab, versión 5.2.1, y una matriz de caracteres y taxones se elaboró con base en la presencia o ausencia de bandas para calcular el coeficiente de similitud de Nei-Li-Dice (19) y construir un fenograma empleando el método UPGMA.

## Resultados

Los perfiles electroforéticos de la saliva de *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *R. prolixus* y *R. robustus* mostraron una compleja composición proteica de bajo peso molecular (figura 1), cuyos perfiles fueron similares a los descritos previamente en otras especies de triatomos (13-15), en tanto que las bandas de proteínas tuvieron pesos moleculares menores a 45 KDa, la mayoría de ellas en un rango de 15 a 25 KDa. *Rhodnius pictipes* presentó el mayor número de bandas exclusivas y 22 de ellas eran compartidas, por lo menos, por dos especies. Las poblaciones de *R. prolixus* de Boyacá y Tolima presentaron el mayor número de bandas de proteínas (14), y las de *R. colombiensis* de Coyaima y Chaparral presentaron el menor número de bandas (cuadro 2).



**Figura 1.** Proteínas salivales en geles de SDS-PAGE al 12 %, coloreados con nitrato de plata. **A)** Especies del género *Rhodnius*: (1) *R. pictipes*, (2) *R. pallescens*, (3) *R. colombiensis* (Coyaima, Tolima), (4) *R. prolixus* (Boyacá), (5) *R. robustus* (Putumayo). **B)** Colonias de *R. prolixus*: (1) Cundinamarca, (2) Tolima, (3) Boyacá, (4) Casanare, (5) Magdalena y (6) Santander. **C)** Colonias de *R. colombiensis*: (1) Ibagué, (2) Icononzo, (3) Coyaima, (4) Chaparral y (5) Líbano

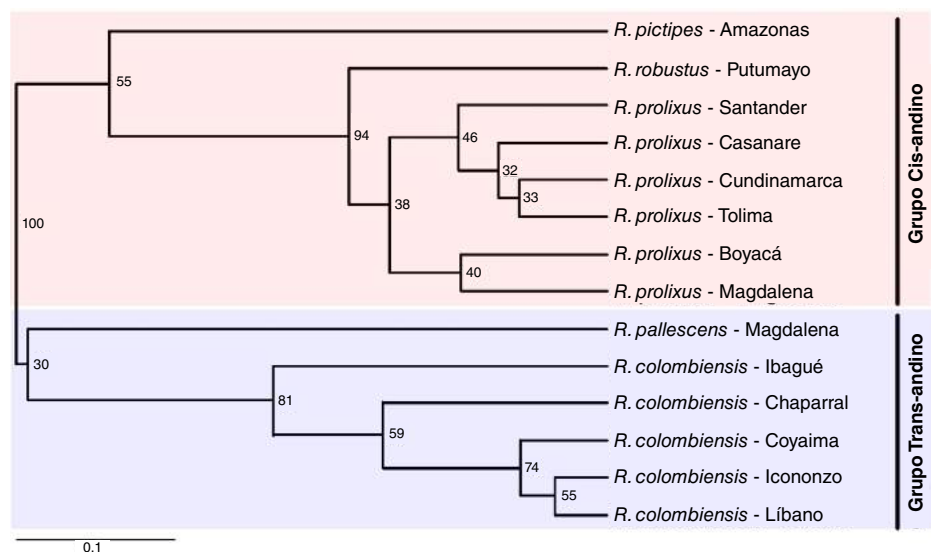
Con el fenograma construido mediante el método UPGMA se diferenciaron cada una de las especies estudiadas y se evidenció la existencia de dos grupos principales (figura 2): uno conformado por *R. robustus*, *R. prolixus* y *R. pictipes* y, el otro, por *R. pallescens* y *R. colombiensis*.

**Cuadro 2.** Pesos moleculares en KDa de las bandas de proteínas salivales de cinco especies del género *Rhodnius*

Banda N° MW	<i>R. pictipes</i>		<i>R. pallescens</i>					<i>R. colombiensis</i>				<i>R. robustus</i>			<i>R. prolixus</i>			
	Amazonas	Putumayo	Ibagué	Incononzo	Coyaima	Chaparral	Libano	Boyacá	Magdalena	Santander	Cundinamarca	Tolima	Casanare					
1 42,31 ± 0,37	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
2 40,07 ± 0,31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1		
3 38,03 ± 0,0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
4 37,33 ± 0,38	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
5 35,61 ± 0,0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
6 34,49 ± 0,07	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
7 32,26 ± 0,0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
8 29,63 ± 0,0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
9 28,19 ± 0,13	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
10 27,26 ± 0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
11 26,52 ± 0,0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
12 25,89 ± 0,0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
13 25,59 ± 0,01	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
14 24,62 ± 0,15	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0		
15 23,8 ± 0,20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1		
16 23,05 ± 0,18	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0		
17 21,3 ± 0,11	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1		
18 20,35 ± 0,05	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0		
19 19,93 ± 0,13	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1		
20 19,5 ± 0,07	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1		
21 19,1 ± 0,04	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1		
22 18,48 ± 0,08	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0		
23 18,06 ± 0,22	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1		
24 17,68 ± 0,13	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
25 17,17 ± 0,0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
26 16,76 ± 0,19	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1		
27 16,23 ± 0,28	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0		
28 15,43 ± 0,06	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
29 15,04 ± 0,47	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1		
30 < 15	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		

MW: *Molecular weight* (peso molecular) en kDa

Significado de los números: 0, banda ausente, 1, banda presente



**Figura 2.** Fenograma construido por el método UPGMA a partir de perfiles electroforéticos de proteínas salivales de cinco especies del género *Rhodnius*. La escala horizontal representa el índice de similitud derivado del índice de Dice.

## Discusión

Los pesos moleculares de las bandas de las proteínas salivales de *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *R. prolixus* y *R. robustus* obtenidos mediante SDS-PAGE concordaron con las masas moleculares de las proteínas codificadas por secuencias de ADNc de longitud completa de las glándulas salivales de *R. prolixus* (20), con algunas proteínas de la familia de las lipocalinas caracterizadas como nitroforinas, con proteínas de unión a amina biogénica y con inhibidores de agregación plaquetaria (21-23), así como con los pesos moleculares de la mayoría de las proteínas identificadas en la saliva de *R. neglectus*, *R. prolixus*, *R. robustus* y *R. brethesi* (24-26). La función principal de estas proteínas es contrarrestar los eventos hemostáticos del huésped, tales como la vasoconstricción, la agregación plaquetaria y la coagulación sanguínea, así como la inflamación y las reacciones del sistema inmunitario del huésped, permitiéndole al insecto un flujo constante de sangre durante su alimentación (27,28).

Estos resultados concuerdan con lo reportado por diferentes autores, quienes mencionan que los perfiles electroforéticos de saliva obtenidos mediante SDS-PAGE de proteínas solubles y electroforesis de hemoproteínas salivales permiten identificar los triatominos hasta el nivel de especie (10-12,14,15). La técnica aplicada también puede servir para ayudar a caracterizar las especies del género *Rhodnius* que son morfológicamente similares.

La variabilidad electroforética de las proteínas salivales en la SDS-PAGE en poblaciones de una misma especie, pero proveniente de áreas geográficas diferentes se ha estudiado en *Panstrongylus megistus* de Brasil (13) y *Triatoma dimidiata* de Colombia y Guatemala (14,15). Los resultados de estos estudios concuerdan con lo aquí evidenciado en el sentido de que no fue posible establecer una relación entre el polimorfismo observado y el área geográfica o el grado de asociación con las viviendas humanas. No obstante, se han reportado diferencias en los perfiles electroforéticos de hemoproteínas salivales en *R. prolixus* provenientes de Venezuela y la región central de Colombia, lo que evidencia que la variación de la composición proteica puede reflejar distancias geográficas entre las poblaciones de una misma especie (10,11). Es probable que esta relación entre el polimorfismo y la región geográfica pueda observarse al aumentar la escala geográfica y comparar los perfiles electroforéticos de diferentes poblaciones de países de Centroamérica y Suramérica.

Por otra parte, la posición de *R. pictipes* del grupo Pictipes en la misma rama con *R. prolixus* y *R. robustus*, del grupo Prolixus, muestra la cercanía entre los dos grupos; sin embargo, la filogenia de *R. pictipes* y las demás especies del grupo ha sido tema de controversia, ya que debido a su amplia distribución geográfica y a las características ecológicas y las similitudes morfológicas con otros Triatominae y predadores reducidos no compartidas por la mayoría de las especies de la tribu Rhodniini, *R. pictipes* podría ser la especie más cercana a la forma ancestral del género *Rhodnius* (8,29,30). En estudios de filogenia molecular basados en marcadores nucleares y mitocondriales, los resultados sobre la posición filogenética de *R. pictipes* han diferido. Se ha encontrado que el grupo transandino Pallescens está estrechamente relacionado con el grupo Pictipes (30,31), en tanto que otros autores reportan que *R. pictipes* está más cerca a *R. prolixus* que a las especies del grupo transandino (1,32,33).

Desde otra perspectiva, en los estudios sobre la interacción de *Rhodnius* y *T. rangeli* se ha postulado una asociación entre los grupos del primero y los genotipos del segundo, observándose que el grupo transandino Pallescens transmite KP1(-) únicamente por inoculación a *T. rangeli*, mientras que el grupo Prolixus solo transmite KP1(+) a *T. rangeli* (4). Recientemente, se ha reportado que las glándulas salivales de *R. pictipes* pueden ser infectadas por la cepa SC-58 de *T. rangeli* KP1(-). Por lo tanto, *R. pictipes* podría transmitir el genotipo KP1(-) de *T. rangeli*, exhibiendo así características biológicas similares a las evidenciadas en las especies del grupo transandino (34).

Puede concluirse que los perfiles electroforéticos de las proteínas salivales permitieron diferenciar entre *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *R. prolixus* y *R. robustus*, y que la variabilidad electroforética interespecifica proporcionó datos para la generación de un fenograma congruente con los grupos transandino y cisandino. Asimismo, la información obtenida en este estudio indica que *R. pictipes* puede compartir características fenotípicas con los grupos Pallescens y Prolixus, lo que respalda el estatus de *R. pictipes* como la especie más cercana a la forma ancestral del género *Rhodnius*.

## Referencias

1. Justi S, Galvão C, Schrago G. Geological changes of the Americas and their influence on the diversification of the neotropical kissing bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10:e0004527. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004527>
2. Da Rosa J, Justino H, Nascimento J, Mendonça V, Rocha C, de Carvalho D, et al. A new species of *Rhodnius* from Brazil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *ZooKeys*. 2017;675:1-25. <https://doi.org/10.3897/zookeys.675.12024>
3. Cuba-Cuba C. Revisión de los aspectos biológicos y diagnósticos del *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998;31:207-20. <https://doi.org/10.1590/S0037-86821998000200007>
4. Vallejo G, Suárez Y, Olaya J, Gutiérrez S, Carranza J. *Trypanosoma rangeli*: un protozoo infectivo y no patógeno para el humano que contribuye al entendimiento de la transmisión vectorial y la infección por *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*. 2015;39:111-22.
5. Abad-Franch F, Monteiro F, Gurgel-Golçalves R, Dias F, Diotaiuti L. Ecology, evolution, and the long-term surveillance of vector-borne Chagas disease: A multi-scale appraisal of the tribe Rhodniini (Triatominae). *Acta Trop*. 2009;110:159-77. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.06.005>
6. Díaz S, Panzera F, Jaramillo-O N, Pérez R, Fernández R, Vallejo G, et al. Genetic, cytogenetic and morphological trends in the evolution of the *Rhodnius* (Triatominae: Rhodniini) Trans-Andean group. *PLoS One*. 2014;9:e87493. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087493>
7. Galvão C, Justi S. The evolutionary origin of diversity in Chagas disease vectors. *Trends Parasitol*. 2017;33:42-52. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.11.002>
8. Schofield C, Dujardin J. Theories on the evolution of *Rhodnius*. *Actualidades Biológicas*. 1999;21:183-97.
9. Schofield C, Galvão C. Classification, evolution and species groups within the Triatominae. *Acta Trop*. 2009;110:88-100. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.01.010>
10. Arévalo A, Carranza JC, Guhl F, Vallejo GA. Patrones electroforéticos de hemoproteínas salivales (nitroforinas) de *Rhodnius colombiensis* y *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Biomédica*. 2007;27(Suppl.1):137-42. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i1.257>
11. Soares R, Gontijo N, Romanha A, Diotaiuti L, Pereira M. Salivary heme proteins distinguish *Rhodnius prolixus* from *Rhodnius robustus* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Acta Trop*. 1998;71:285-91. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(98\)00065-5](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(98)00065-5)
12. Soares R, Sant'Anna M, Gontijo N, Romanha A, Diotaiuti L, Pereira M. Identification of morphologically similar *Rhodnius* species (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) by electrophoresis of salivary heme proteins. *Am J Trop Med Hyg*. 2000;62:157-61.



13. Barbosa S, Diotaiuti L, Braga E, Pereira M. Variability of the salivary proteins of 20 Brazilian populations of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Acta Trop*. 2004;92:25-33. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2004.05.012>
14. Flórez M, Niño R, Gonzalo R, Muñoz G, Angulo V. Perfil electroforético de proteínas presentes en la saliva de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Salud UIS*. 2009;41:121-7.
15. Pineda S, Melgar S, Dorn P, Agreda E, Rodas A, Monroy C. Salivary protein profiles distinguish triatomine species and populations of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol*. 2008;45:52-8. <https://doi.org/10.1093/jmedent/45.1.52>
16. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-54. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
17. Blum H, Beier H, Gross HJ. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. *Electrophoresis*. 1987;8:93-9.
18. Shevchenko A, Wilm M, Vorm O, Mann M. Mass spectrometric sequencing of proteins silver-stained polyacrylamide gels. *Anal Chem*. 1996;68:850-8. <https://doi.org/10.1021/ac950914h>
19. Dice L. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology*. 1945;26:297-302. <https://doi.org/10.2307/1932409>
20. Ribeiro J, Andersen J, Silva-Neto M, Pham V, Garfield M, Valenzuela J. Exploring the sialome of the blood-sucking bug *Rhodnius prolixus*. *Insect Biochem Mol Biol*. 2004;34:61-79. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2003.09.004>
21. Andersen J, Gudderra N, Francischetti I, Ribeiro J. The role of salivary lipocalins in blood feeding by *Rhodnius prolixus*. *Arch Insect Biochem Physiol*. 2005;58:97-105. <https://doi.org/10.1002/arch.20032>
22. Francischetti I, Ribeiro J, Champagne D, Andersen J. Purification, cloning, expression, and mechanism of action of a novel platelet aggregation inhibitor from the salivary gland of the blood-sucking bug, *Rhodnius prolixus*. *J Biol Chem*. 2000;275:12639-50. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.17.12639>
23. Sun J, Yuda M, Miura K, Chinzei Y. Characterization and cDNA cloning of a hemoprotein in the salivary glands of the blood-sucking insect, *Rhodnius prolixus*. *Insect Biochem Mol Biol*. 1998;29:191-200. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(97\)00115-X](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(97)00115-X)
24. Costa C, Sousa M, Ricart C, Santana J, Teixeira A, Roepstorff P, et al. 2-DE-based proteomic investigation of the saliva of the Amazonian triatomine vectors of Chagas disease: *Rhodnius brethesi* and *Rhodnius robustus*. *J Proteomics*. 2011;74:1652-63. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.02.022>
25. Montandon C, Barros E, Vidigal P, Mendes M, Anhô A, de Oliveira H, et al. Comparative proteomic analysis of the saliva of the *Rhodnius prolixus*, *Triatoma lecticularia* and *Panstrongylus herreri* triatomines reveals a high interespecific functional biodiversity. *Insect Biochem Mol Biol*. 2016;71:83-90. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2016.02.009>
26. Santiago P, Assumpção T, Araújo C, Bastos I, Neves D, Silva I, et al. A deep insight into the sialome of *Rhodnius neglectus*, a vector of Chagas disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10:e0004581. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004581>
27. Andrade B, Teixeira R, Barral A, Barral-Netto M. Haematophagous arthropod saliva and host defense system: A tale of tear and blood. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2005;77:665-93. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652005000400008>
28. Fontaine A, Diouf I, Bakkali N, Missé D, Pagès F, Fusai F, et al. Implication of haematophagous arthropod salivary proteins in host-vector interactions. *Parasit Vectors*. 2011;187:1-17. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-187>
29. Bargues M, Schofield C, Dujardin J. Classification and phylogeny of the Triatominae. En: Telleria J, Tibayrenc M, editors. *American Trypanosomiasis, Chagas Disease One Hundred Years of Research*. Montpellier: Elsevier; 2010. p.117-47. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384876-5.00006-X>
30. Lyman D, Monteiro F, Escalante A, Cordon-Rosales C, Wesson D, Dujardin JP, et al. Mitochondrial DNA sequence variation among triatomine vectors of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;60:377-86. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.60.377>
31. Monteiro F, Wesson D, Dotson E, Schofield C, Beard C. Phylogeny and molecular taxonomy of the *Rhodniini* derived from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Am J Trop Med Hyg*. 2000;62:460-5.



32. Hypsa V, Tietz D, Zrzavy J, Rego R, Galvão C, Jurberg J. Phylogeny and biogeography of Triatominae (Hemiptera Reduviidae): Molecular evidence of a New World origin of the Asiatic clade. *Mol Phylogen Evol.* 2002;23:447-57. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00023-4)
33. Justi S, Russo C, Dos Santos J, Takashi M, Galvão C. Molecular phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Parasit Vectors.* 2014;7:149-61. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-149>
34. Barreto-Santana D, Santos-Schuenker L, da Fonseca A, Gurgel-Gonçalves R, Cuba-Cuba A. Susceptibility of different *Rhodnius* species (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) to a Brazilian strain of *Trypanosoma rangeli* (SC58/KP1-). *Biomédica.* 2015;35:81-9. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i1.2213>

Cartas al editor

Cali, 6 de marzo de 2020

Señores  
Comité Editorial  
Revista *Biomédica*  
Bogotá

Estimados señores:

Recientemente leímos un reporte de caso publicado en su revista llamado “Abscesos cerebrales por *Nocardia* spp. en una paciente inmunocompetente,” de Trujillo, *et al.* (1), sobre el que quisiéramos hacer algunas acotaciones.

Es usual encontrar en la práctica clínica y en las publicaciones científicas conclusiones que atribuyen un estado de “inmunocompetencia” a los individuos con base únicamente en la exclusión del HIV o, en algunos casos menos frecuentes, de otras causas de inmunodeficiencia secundaria (2,3), tal como ocurre en el reporte de caso en mención. En este sentido, es necesario aclarar que el estado de inmunocompetencia trasciende la mera exclusión de las condiciones patológicas asociadas e implica, por lo menos, una evaluación objetiva básica de las variables cuantitativas y cualitativas de la respuesta inmunológica mediante herramientas disponibles en la práctica clínica, la cual debe responder de forma individualizada al perfil de infección del paciente en aquellos casos relacionados con infecciones atípicas, recurrentes o de difícil manejo (4).

Los autores mencionan que: “[...] La aparición de nocardiosis en un paciente inmunocompetente es rara, por lo que se debe descartar la inmunosupresión por cualquier causa [...]” sin embargo, solo mencionan la exclusión de las principales causas de inmunodeficiencia secundaria, sin informar si habían evaluado parámetros inmunológicos accesibles en la práctica clínica, como la cuantificación de linfocitos T, B, células NK, niveles de inmunoglobulinas séricas (IgG, IgA, IgM o IgE), o la función de los fagocitos (reducción de dihidrorrodamina, DHR 123), y si habían hecho pruebas genéticas para encontrar mutaciones en genes fundamentales para la respuesta inmunológica (paneles y secuenciación exómic). En caso de ser normales, dichos exámenes paraclínicos pueden precisar una definición de “inmunocompetencia” o demostrar alguna alteración indicativa de la presencia de un trastorno intrínseco primario de la respuesta inmunitaria, o de inmunodeficiencia primaria, que a pesar de ser más prevalentes en la niñez, también pueden manifestarse clínicamente en la adultez o ser diagnosticadas tardíamente (5).

Con relación a la infección del caso que comentamos, además de ser atípica, fue agresiva y comprometió tejidos blandos, el pulmón y el sistema nervioso central, lo que configura una situación de alerta por un estado de inmunodeficiencia, incluso primaria, como se ha reportado en algunas series de nocardiosis (6). Se podrían considerar dos probables inmunodeficiencias primarias que podrían explicar el cuadro: en primer lugar, la susceptibilidad (sic) mendeliana a las micobacterias asociada con defectos intrínsecos de las vías de la IL-12 e IL-23 dependientes de IFN-gamma, fundamentales para el control de infecciones por micobacterias y *Nocardia* spp. (7); y, en segundo lugar, la enfermedad granulomatosa crónica, más probable en este caso dado el fenotipo clínico de la paciente.

Esta enfermedad es una inmunodeficiencia primaria en la que las mutaciones en alguna de las cinco subunidades de la NADPH oxidasa de los fagocitos resultan en la disminución de la capacidad de estallido respiratorio en estas células, defecto que se suma a la presencia de factores de virulencia típicos de *Nocardia* spp., como la expresión de la catalasa y de la superóxido dismutasa, que aumenta la capacidad de evasión de los mecanismos de defensa mediados por el estallido respiratorio (8) (ya bastante disminuidos en la enfermedad granulomatosa crónica), así como la sensibilidad a otros microorganismos como *Aspergillus* spp., *Serratia marcescens* y *Salmonella* no tifoidea (9).

En la práctica clínica sugerimos solicitar un test de estallido respiratorio de fagocitos con DHR 123, así como un panel genético en busca de mutaciones en este complejo enzimático, lo que puede demostrar defectos funcionales en los fagocitos asociados con mutaciones genéticas puntuales que explicarían un cuadro secundario a una probable enfermedad granulomatosa crónica, como ha ocurrido en casos en los que esta se ha diagnosticado en la adultez, con características clínicas y microbiológicas casi idénticas a las presentadas en el caso en mención (10).

Dado lo anterior, sugerimos no clasificar a los pacientes como inmunocompetentes si este tipo de evaluaciones no se han realizado y, en caso de haberlo hecho, mencionarlo en los manuscritos.

Fabio Samir Vargas-Cely

Médico interno, Universidad del Valle, Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia; Departamento de Microbiología, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Andrés F. Zea-Vera

Departamento de Microbiología, Universidad del Valle, Cali, Colombia; Inmunología Clínica, Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia

## Referencias

1. Trujillo DE, Ortiz S, Pérez Ó, Cortés CA, Carrillo JA. Abscesos cerebrales por *Nocardia* spp. en una paciente inmunocompetente. *Biomédica*. 2020;40:27-33. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4925>
2. Fontalvo DM, Borré GJ, Camargo DG, Jiménez NC, Rodríguez JB, Cano C, *et al.* Tuberculosis and fungal co-infection present in a previously healthy patient Coinfección de tuberculosis y candidiasis pulmonar en paciente previamente sana. *Colomb Méd*. 2016;47:105-8.
3. Solano-Varela DM, Barrios-Vidales EM, Plaza DF, Riveros WM, Chica CE, Patarroyo MA. Immunocompetent patient with a brain abscess caused by *Nocardia beijingensis* in Latin America. *Medicine (Baltimore)*. 2019;11:11-4. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014879>
4. Zea-Vera AF. Inmunocompetencia en adultos: más que VIH negativo. *Colomb Med*. 2016;47:176-7.
5. Rosenberg E, Dent PB, Denburg JA. Primary immune deficiencies in the adult: A previously underrecognized common condition. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;4:1101-7. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2016.09.004>
6. Huang L, Sun L, Yan Y. Characteristics of nocardiosis patients with different immune status from a Chinese tertiary general hospital during 8-year period: A STROBE-compliment Observational Study. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98:e17913. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017913>
7. Luangwedchakarn V, Jirapongsaranuruk O, Niemela JE, Thepthai C, Chokephaibulkit K, Sukpanichnant S, *et al.* A novel mutation of the IL12RB1 gene in a child with nocardiosis, recurrent salmonellosis and neurofibromatosis type I: First case report from Thailand. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2009;27:161-5.
8. Bafghi MF, Eshraghi SS, Heidarieh P, Habibnia S, Nasab MR. Nocardiosis in immune disorder disease. *Malays J Med Sci*. 2014;21:75-6.

9. Arnold DE, Heimall JR. A review of chronic granulomatous disease. *Adv Ther.* 2017;34:2543-57. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0636-2>
10. Schwenkenbecher P, Neyazi A, Donnerstag F, Ringshausen FC, Jacobs R, Stoll M, *et al.* Chronic granulomatous disease first diagnosed in adulthood presenting with spinal cord infection. *Front Immunol.* 2018;9:1258. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01258>

\*\*\*

Bogotá, D.C., 6 de mayo de 2020

Señores  
Comité Editorial  
Revista Biomédica  
La ciudad

Estimados señores:

Ante todo, agradecemos los comentarios de Vargas, *et al.*, a nuestra publicación "Abscesos cerebrales por *Nocardia* spp. en una paciente inmunocompetente" (*Biomédica.* 2020;40:27-33. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4925>). Entre los exámenes especializados de hematología e infectología que se le hicieron a la paciente del caso que presentamos, se midió el nivel de inmunoglobulinas séricas (inmunoglobulinas G, M y E), el cual fue normal. Los demás exámenes paraclínicos reseñados por los autores de la carta (conteo de células *natural killer*, conteo diferencial de linfocitos T, evaluación de competencia de células fagocíticas y estudios genéticos) no se hicieron.

La prevalencia de la enfermedad granulomatosa crónica en población adulta no se conoce (1) y, si bien se ha descrito su asociación con la nocardiosis en la práctica clínica, la pertinencia de hacer dichos estudios en un paciente hospitalizado no es clara (2).

Hasta el momento no hay una directriz inequívoca sobre la necesidad de hacer estudios inmunogenéticos, como tampoco una guía que nos oriente en torno a estudios adicionales en casos similares de pacientes adultos sin otras manifestaciones de la enfermedad (3), por lo que, dada la adecuada respuesta de la paciente al tratamiento durante el seguimiento, el Servicio de Infectología no consideró la necesidad de hacerlos.

Les agradecemos la recomendación y en futuras oportunidades se tendrá en cuenta la pertinencia de la evaluación inmunológica completa.

Danilo Eduardo Trujillo-González  
Residente de Medicina Interna, Universidad del Rosario, Fundación Cardio-Infantil, Instituto de Cardiología, Bogotá, D.C., Colombia

### Referencias

1. van den Berg JM, van Koppen E, Ahlin A, Belohradsky BH, Bernatowska E, Corbeel L, *et al.* Chronic granulomatous disease: The European experience. *PLoS One* 2009;4:e5234. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005234>
2. Roos D. Chronic granulomatous disease. *Br Med Bull.* 2016;118:50-63. <https://doi.org/10.1093/bmb/dw009>
3. Mortaz E, Azempour E, Mansouri D, Tabarsi P, Ghazi M, Koenderman L, *et al.* Common infections and target organs associated with chronic granulomatous disease in Iran. *Int Arch Allergy Immunol.* 2019;179:62-73. <https://doi.org/10.1159/000496181>

## Cartas al editor

Lima, 2 de junio de 2020

Señores  
Comité Editorial  
Revista *Biomédica*  
Bogotá, D.C.

Estimados señores:

En un reciente e importante estudio aparecido en *Biomédica* (1), se utilizó una de las escalas de percepción del estrés (*Perceived Stress Scale*) (2) más representativas internacionalmente para su medición cuantitativa. Aunque la amplia difusión de dicha escala pareciera contradecirlo, su estructura dimensional ha sido objeto de controversia frente a la pregunta de si sus puntajes implican una o dos dimensiones.

Los autores reportan tangencialmente que en su estudio hallaron una sola dimensión, sin más respaldo empírico que la magnitud del valor propio (*Eigenvalue*) y el porcentaje de varianza retenida por este único factor. Este resultado es afortunado porque en sus principales estudios, el autor de la escala lo usa como una medida unidimensional (3-5), concepción que queda explícita desde el título mismo de su primer artículo sobre la elaboración de la escala, pues lo califica como una medida “global” del estrés (2), y no como una medida multidimensional. Esto contrasta con el uso internacional de la escala. Efectivamente, en la mayoría de los estudios se la emplea como una medida de dos dimensiones. En la revisión sistemática de Lee (6) sobre estudios hasta el 2012, se señalaba como el resultado empírico más frecuente sobre la dimensión de la escala el de las dos dimensiones, ambas asociadas con el fraseo de los ítems (positivos y negativos).

Para contextualizar los hallazgos de esa revisión sistemática (6), en el cuadro 1 se presenta un resumen de algunas de las características más relevantes de los estudios de validación de la estructura interna de la escala en participantes colombianos (7-9) considerando el enfoque analítico (exploratorio o confirmatorio), el método de factorización (función de ajuste, rotación), el tamaño muestral, la versión utilizada, la consistencia interna (alfa), el número de factores empíricos obtenidos, la nominación de los factores, y la observación.

**Cuadro 1.** Revisión de estudios psicométricos colombianos

	Enfoque analítico	Método	N	R interfactorial	Versión	Alfa	Número de factores	Nominación	Observación
Campo-Arias, <i>et al.</i> (2009)	Exploratorio	Función: ML Rotación: Promax	175	0,649	PSS-10 PSS-14	PSS14 total: 0.87 PSS10 total: 0.86	PSS-10: 1 factor PSS-14: 2 factores	F1: percepción del estrés F2: afrontamiento de los estresores	No se recomienda usar puntaje total
Campo-Arias, <i>et al.</i> (2015)	Exploratorio	Función: ML Rotación: Promax	366	-0,224	PSS-10 PSS-4	PSS14 total: 0.65 F1: 0.82 F2: 0.83	PSS14: 2 factores	F1: estrés general F: capacidad de afrontamiento	Sin claridad en la conclusión
Días, <i>et al.</i> (2015)	Exploratorio	Función: PCA Rotación: Promax	352	No reportado	PSS-14	PSS14 total: 0.84 F1: 0.821 F2: 0.814	PSS-14: 2 factores	No reportado	Se utilizó puntaje total

PSS: *Perceived Stress Scale*

En este sentido, hasta el momento de la elaboración de esta carta, el único enfoque analítico había sido el exploratorio, el tamaño muestral era de menos de 500, los factores se nominaban de forma diferente, la función del ajuste estadístico se utilizaba sin considerar la naturaleza categórica de los ítems ni su sensibilidad frente al incumplimiento de la normalidad multivariada, había una alta variabilidad de la correlación interfactorial e inconsistencia en su reporte, así como en el uso de un puntaje total frente al hallazgo empírico de dos factores obtenidos en la propia muestra de estudio. Este conjunto de características parece no corresponder con las actuales recomendaciones del uso de métodos factoriales exploratorios (10). Es evidente que es necesario incluir otros modelos, como el método *bifactor* (11,12), el cual se viene aplicando en los estudios posteriores al 2012 (13,14), y con el que se ha logrado determinar consistentemente una sola dimensión de la escala. En resumen, parece que al evaluar las dimensiones de esta escala, se obtienen diferentes conclusiones según la metodología empleada.

En este contexto, se hace un llamado para que los autores expongan con mayor detalle los resultados factoriales que permiten la interpretación unidimensional (no multidimensional) de esta escala.

César Merino-Soto  
Universidad de San Martín de Porres

## Referencias

1. Guzmán-Tordecilla DN, Vecino-Ortiz AI, Lucumí D, Mentz G. El estrés crónico como mediador de la relación entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico en pacientes hipertensos. *Biomédica*. 2020;40:243-56. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4780>
2. Cohen S, Kamarch T, Mermelstein R. A global measure of perceived stress. *J Health Soc Behav*. 1983;24:385-96. <https://doi.org/10.2307/2136404>
3. Cohen S, Janicki-Deverts D. Who's stressed? Distributions of psychological stress in the United States in probability samples from 1983, 2006, and 2009. *J Appl Soc Psychol*. 2012;42:1320-34. <https://doi.org/10.1111/j.1559-1816.2012.00900.x>
4. Cohen S, Tyrrell DA, Smith AP. Negative life events, perceived stress, negative affect, and susceptibility to the common cold. *J Pers Soc Psychol*. 1993;64:131-40. <https://doi.org/10.1037/0022-3514.64.1.131>
5. Cohen S, Williamson GM. Perceived stress in a probability sample of the United States. En Spacapan S, Oskamp S, editors. *The social psychology of health: The Claremont Symposium on Applied Social Psychology*. Newbury Park, CA: Sage Publications; 1988. p. 31-67.
6. Lee EH. Review of the psychometric evidence of the perceived stress scale. *Asian Nursing Research*. 2012;6:121-7. <https://doi.org/10.1016/j.anr.2012.08.004>
7. Campo A, Bustos G, Romero A. Consistencia interna y dimensionalidad de la Escala de Estrés Percibido (EEP-10 y EEP-14) en una muestra de universitarias de Bogotá, Colombia. *Aquichan*. 2009;9:271-80.
8. Campo-Arias A, Oviedo H, Herazo E. Escala de Estrés Percibido-10: Desempeño psicométrico en estudiantes de medicina de Bucaramanga, Colombia. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2014;62:1-24. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v62n3.43735>
9. Díaz-Corchuelo A, Córdón-Pozo E, Rubio-Herrera R. Percepción de estrés en personal universitario. *Diversitas*. 2015;11:207-15.
10. Lloret-Segura S, Ferreres-Traver A, Hernández-Baeza A, Tomás-Marco I. El análisis factorial exploratorio de los ítems: una guía práctica, revisada y actualizada. *Anales de Psicología*. 2014;30:1151-69. <https://doi.org/10.6018/analesps.30.3.199361>
11. Reise SP, Morizot J, Hays RD. The role of the bifactor model in resolving dimensionality issues in health outcomes measures. *Qual Life Res*. 2007;16 (Suppl. 1):19-31. <https://doi.org/10.1007/s11136-007-9183-7>

12. Brown T. Confirmatory factor analysis for applied research. Second edition. New York, NY: Guilford Press; 2015.
13. Denovan A, Dagnall N, Dhingra K, Grogan S. Evaluating the Perceived Stress Scale among UK university students: Implications for stress measurement and management. *Studies in Higher Education*. 2019;44:120-33. <https://doi.org/10.1080/03075079.2017.1340445>
14. Lee B, Jeong HI. Construct validity of the perceived stress scale (PSS-10) in a sample of early childhood teacher candidates. *Psychiat Clin Psychopharmacol*. 2019;29:76-88. <https://doi.org/10.1080/24750573.2019.1565693>

\*\*\*

Bogotá, 2 de junio de 2020

Señores  
Comité Editorial  
Revista *Biomédica*  
La ciudad

Estimados señores;

Con relación a la carta titulada “Escala de estrés percibido (PSS) en Colombia: comentarios al estudio de Guzmán, *et al.*” (2020), agradecemos al doctor Merino-Soto por compartir sus consideraciones en torno a nuestro trabajo. Sobre sus observaciones, quisiéramos comentar lo siguiente.

Tal cual como lo menciona el Dr. Merino-Soto, actualmente no hay consenso en la literatura especializada sobre si la escala de estrés percibido (*Perceived Stress Scale*, PSS) desarrollada por Cohen, *et al.* (1), tiene una o dos dimensiones (2,3). En algunos estudios, como la revisión de Lee, se señala que tiene dos dimensiones (4). Sin embargo, en nuestro estudio y en otros con muestras superiores a 500 observaciones, se ha encontrado una dimensión utilizando técnicas exploratorias y confirmatorias (5-10).

Algunos autores han sugerido que cualquier diferencia entre los factores es irrelevante y solo refleja la estructura de las oraciones de la escala (10). De hecho, en algunos estudios se han determinado dos dimensiones, pero sugieren usarla como una puntuación resumida (8,11). Por ejemplo, Reis, *et al.*, mencionan que el análisis de confiabilidad y la evidencia de la validez del constructo no proporcionaron respaldo para el empleo de dos escalas separadas en su población de estudio (8). Por su parte Wu, *et al.*, empleando un diseño aleatorio-longitudinal y un modelo *bifactor*, concluyeron que sus resultados proporcionaban evidencia suficiente sobre la naturaleza unidimensional de todas las formas de la PSS y respaldaron el uso de la puntuación resumida (11). En un estudio publicado recientemente se usaron diferentes modelos de análisis: de un factor, de dos factores correlacionados, de tres factores correlacionados y el *bifactor*, y sus hallazgos respaldaron los resultados de Mu, *et al.* sobre la naturaleza unidimensional de la PSS (12).

En el contexto colombiano tampoco hay un consenso frente a si la escala tiene una o dos dimensiones. En uno de sus estudios, Campo-Arias, *et al.*, establecieron que la escala tenía dos dimensiones, pero en otro de este mismo autor, se encontró una sola dimensión (5,13). Una de las conclusiones frente a estos hallazgos fue que las divergencias en las dimensiones observadas probablemente guarden relación con los criterios empleados para su selección (13). Otra explicación se relaciona con el hecho de que

la consistencia interna y la solución factorial de una escala varían de una población a otra (5).

En este sentido, en el estudio de Lee se encontró que los profesores, los estudiantes y los trabajadores universitarios son la población en la que frecuentemente se ha aplicado la PSS (4), es decir que la medición del estrés con esta escala se ha limitado a grupos y condiciones específicas, por lo que la generalización de sus resultados en otros públicos es limitada (8).

Es posible afirmar, entonces, que no se ha podido establecer un consenso sobre las dimensiones de la PSS y que, a pesar de sus limitaciones, nuestro estudio aporta a dicha discusión. Es necesario, sin embargo, centrarse en la evaluación de las dimensiones de la PSS con diferentes métodos y grupos poblacionales en futuros estudios.

Deivis Nicolás Guzmán-Tordecilla

Escuela de Gobierno, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

Andrés Ignacio Vecino-Ortiz

Escuela de Gobierno, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia; Instituto de Salud Pública, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

Diego Lucumí

Escuela de Gobierno, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

Graciela Mentz

Department of Health Behavior and Health Education, University of Michigan, Michigan, Estados Unidos

## Referencias

1. Cohen S, Kamarck T, Mermelstein R. A global measure of perceived stress. *J Health Soc Behav.* 1983;24:385-96.
2. Machado W, Damásio BF, Borsa JC, da Silva JP. Dimensionalidade da escala de estresse percebido (*Perceived Stress Scale*, PSS-10) em uma amostra de professores. *Psicol Reflex e Crit.* 2014;27:38-43.
3. Yokokura AV, Silva AA, Fernandes JK, Del-Ben CM, Figueiredo FP, Barbieri MA, *et al.* Perceived Stress Scale: Confirmatory factor analysis of the PSS14 and PSS10 versions in two samples of pregnant women from the BRISA cohort. *Cad Saude Publica.* 2017;33:e00184615. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00184615>
4. Lee EH. Review of the psychometric evidence of the perceived stress scale. *Asian Nursing Research.* 2012;6:121-7.
5. Campo-Arias A, Bustos-Leiton G, Romero-Chaparro A. Consistencia interna y dimensionalidad de la Escala de Estrés Percibido (EEP-10 y EEP-14) en una muestra de universitarias de Bogotá, Colombia. *Aquichan.* 2009;9:271-80.
6. Luft C, de Oliveira Sanches S, Mazo GZ, Andrade A. Versão brasileira da Escala de Estresse Percebido: tradução e validação para idosos. *Rev Saude Publica.* 2007;41:606-15. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102007000400015>
7. Mitchell AM, Crane PA, Kim Y. Perceived stress in survivors of suicide: Psychometric properties of the perceived stress scale. *Res Nurs Health.* 2008;31:576-85. <https://doi.org/10.1002/nur.20284>
8. Reis R, Ferreira Hino AA, Romélio Rodríguez Añez C. Perceived stress scale: Reliability and validity study in Brazil. *J Health Psychol.* 2010;15:107-14. <https://doi.org/10.1177/1359105309346343>
9. Guzmán-Tordecilla DN, Vecino-Ortiz AI, Lucumí D, Mentz G. El estrés crónico como mediador de la relación entre la posición socioeconómica y el cumplimiento del tratamiento farmacológico en pacientes hipertensos. *Biomédica.* 2020;40:243-56. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4780>



10. Cohen S, Williamsom GM. Perceived stress in a probability sample of United States. In: Spacapan S, Oskamp S, (Eds.). The social psychology of health: Claremont Symposium on applied social psychology. Newbury Park, CA: Sage, 1988.
11. Wu SM, Amtmann D. Psychometric evaluation of the Perceived Stress Scale in multiple sclerosis. International Scholarly Research Notices. 2013;2013:1-9. <https://doi.org/10.1155/2013/608356>
12. Denovan A, Dagnall N, Dhingra K, Grogan S. Evaluating the Perceived Stress Scale among UK university students: Implications for stress measurement and management. Stud High Educ. 2019;44:120-33. <https://doi.org/10.1080/03075079.2017.1340445>
13. Campo-Arias A, Oviedo HC, Herazo E. The psychometric performance of the perceived stress scale-10 on medical students from Bucaramanga, Colombia. Revista de la Facultad de Medicina. 2014;62:407-13.