

A detailed scanning electron micrograph (SEM) of a biological structure, likely a plant stem or fruit, covered in numerous sharp, conical spines. The spines are densely packed and vary in length and orientation, creating a complex, textured surface. The background is dark, highlighting the intricate details of the spines.

I-ISSN 2590-7379 (Electrónico)

# Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

Volumen 42, Suplemento No. 1 - Enfermedades crónicas en el trópico

Mayo de 2022, Bogotá, D.C., Colombia, S.A.

**Portada:** Primer puesto, categoría de microscopía electrónica de transmisión o de barrido, Concurso Fotografía Biomédica 2021  
Granos de polen de *Alcea rosea*  
Microscopio electrónico de barrido del Centro de Microscopía Avanzada de la Universidad de Antioquia  
Edgar Javier Rincón-Barón, Universidad de Santander, Bucaramanga, Colombia

# Biomédica Instituto Nacional de Salud

Volumen 42, Suplemento No. 1 - Bogotá, D.C., Colombia - Mayo de 2022

## Comité Editorial

<b>EDITORES</b>	<b>LUIS ALBERTO GÓMEZ</b> Instituto Nacional de Salud Bogotá, D.C., Colombia	<b>CARLOS ARTURO HERNÁNDEZ</b> Instituto Nacional de Salud Bogotá, D.C., Colombia	<b>RUBÉN SANTIAGO NICHOLLS</b> Organización Panamericana de la Salud Washington, D.C., Estados Unidos
<b>EDITORES ASOCIADOS</b>	<b>ENRIQUE ARDILA</b> Academia Nacional de Medicina Bogotá, D.C., Colombia	<b>JULIÁN ALFREDO FERNÁNDEZ-NIÑO</b> Universidad del Norte Barranquilla, Colombia	<b>ERIKA SANTAMARÍA</b> Instituto Nacional de Salud Bogotá, D.C., Colombia
	<b>JOSÉ MORENO-MONTOYA</b> Fundación Santa Fe de Bogotá Bogotá, D.C., Colombia	<b>OMAR SEGURA</b> Federación Médica Colombiana Bogotá, D.C., Colombia	<b>ORLANDO TORRES-FERNÁNDEZ</b> Instituto Nacional de Salud Bogotá, D.C., Colombia
	<b>LEONARD MUNSTERMANN</b> Yale University School of Medicine New Haven, CT, Estados Unidos	<b>MAGDALENA WIESNER</b> Instituto Nacional de Salud Bogotá, D.C., Colombia	

## Comité Científico

<b>ARNOLDO BARBOSA</b> Universidad del Tolima Ibagué, Colombia	<b>ANDRÉS DE FRANCISCO</b> Organización Panamericana de la Salud Washington, D.C., Estados Unidos	<b>JOHN MARIO GONZÁLEZ</b> Universidad de los Andes Bogotá, D.C., Colombia
<b>ANTONIO BERMÚDEZ</b> Instituto Nacional de Salud Bogotá, D.C., Colombia	<b>FERNANDO DE LA HOZ</b> Universidad Nacional de Colombia Bogotá, D.C., Colombia	<b>FELIPE GUHL</b> Universidad de los Andes Bogotá, D.C., Colombia
<b>JORGE H. BOTERO</b> Universidad de Antioquia Medellín, Colombia	<b>JOSÉ LUIS DI FABIO</b> Organización Panamericana de la Salud Washington, D.C., Estados Unidos	<b>ANTONIO IGLESIAS</b> Universidad Nacional de Colombia Bogotá, D.C., Colombia
<b>GUSTAVO ALONSO CABRERA</b> Universidad de Antioquia Medellín, Colombia	<b>JORGE HERNANDO DONADO</b> Universidad Pontificia Bolivariana Medellín, Colombia	<b>JORGE JARA</b> Organización Panamericana de la Salud Washington, D.C., Estados Unidos
<b>VÍCTOR CÁRDENAS</b> University of Arkansas Little Rock, AK, Estados Unidos	<b>CARLOS ANDRÉS FANDIÑO</b> Universidad del Valle Cali, Colombia	<b>ERNESTO JARAMILLO</b> Organización Mundial de la Salud Ginebra, Suiza
<b>ALBERTO CONCHA-EASTMAN</b> Guatapé, Colombia	<b>JOSÉ FIGUEROA</b> World Health Organization Ginebra, Suiza	<b>MARCELO LABRUNA</b> Universidade de São Paulo São Paulo, Brasil
<b>ZOILO CUÉLLAR</b> Academia Nacional de Medicina Bogotá, D.C., Colombia	<b>LUIS FERNANDO GARCÍA</b> Universidad de Antioquia Medellín, Colombia	<b>JAIRO LIZARAZO</b> Hospital Universitario Erasmo Meoz Cúcuta, Colombia
<b>LUIS GABRIEL CUERVO</b> Organización Panamericana de la Salud Washington, D.C., Estados Unidos	<b>ALBERTO GÓMEZ</b> Pontificia Universidad Javeriana Bogotá, D.C., Colombia	<b>JUAN GUILLERMO McEWEN</b> Corporación para Investigaciones Biológicas Medellín, Colombia
<b>PATRICIA DEL PORTILLO</b> Corpogén Bogotá, D.C., Colombia	<b>ENRIQUE GONZÁLEZ</b> University of Texas Health Science Center at San Antonio San Antonio, TX, Estados Unidos	<b>ROBERTO MENDOZA</b> 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

Herencia de las enfermedades comunes <i>Jaime Bernal-Villegas</i> .....	5
--	---

## Reporte de caso

Reacción granulomatosa de tipo sarcoideo secundaria a biopolímeros: reporte de caso y revisión de la literatura <i>María Fernanda Corrales, Rodrigo Restrepo, Estefanía Calle, Daniela Morales</i> .....	8
---	---

Curación de úlcera venosa crónica de la pierna con aloinjerto de membrana amniocoriónica humana fresca <i>Alberto Piamo, Mayra García, Dayset Romero, Daisy Ferrer</i> .....	17
---	----

## Ensayo

Estrategias de fortalecimiento de la seguridad y la soberanía alimentaria en medio de la pandemia de COVID-19 en Colombia <i>Paula Andrea Castro, Julie Pauline Bustos, Paola Rueda-Guevara</i> .....	26
--	----

## Artículo original

Valor de la secuencia coronal-T1W agregada al protocolo de imágenes de resonancia magnética en casos de dolor lumbar <i>Ahmet Nedim Kahraman, Ahmet Vural</i> .....	33
--	----

Propiedades psicométricas de la versión en español del <i>Type 2 Diabetes Stigma Assessment Scale</i> (DSAS 2) en población colombiana <i>Víctor Pedrero, Luz Marina Alonso, Jorge Manzi</i> .....	41
---	----

Eficacia de los niveles séricos de S100B, TRAIL y adropina para predecir el resultado clínico, el núcleo del infarto final y los subtipos de ataque cerebrovascular de los pacientes con accidente cerebrovascular isquémico agudo <i>Ozge Altintas Kadirhan, Okkes Taha Kucukdagli, Bedia Gulen</i> .....	55
---	----

Experiencia en el uso de los protocolos Biomed-2 para el estudio de reordenamientos de TCR e inmunoglobulinas en proliferaciones linfoides en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia <i>Nicolás Villamizar-Rivera, Natalia Olaya</i> .....	64
--	----

Intervenciones en el ambiente construido y niveles de actividad física: una revisión sistemática <i>Susana Barradas, Diego Lucumí, Deivis Nicolás Guzmán-Tordecilla, Jeremy Young, Diana Pinzón</i> .....	79
--	----

Caracterización clínica y funcional de pacientes con atrofia muscular espinal en el centro-occidente colombiano <i>Natalia Cardona, Sandra Jhoana Ocampo, Jorge Mario Estrada, María Isabel Mojica, Gloria Liliana Porras</i> .....	89
--	----

Sobrepeso y obesidad: factores familiares, dietéticos y de actividad física en escolares de una institución educativa de estrato medio-alto en Cali, Colombia <i>Adela Herrera, Consuelo Sarmiento</i> .....	100
---	-----

Polimorfismos del gen de la apolipoproteína E en adultos mayores de 60 años con disminución de la memoria cognitiva y enfermedad de Alzheimer en diferentes poblaciones venezolanas <i>Silvia Martínez, Bárbara Ochoa, María Rafaela Pérez, Fátima Torrico, Ildemaro García, Carmen Cristina García</i> .....	116
--	-----

Caracterización fenotípica de la retinitis pigmentaria asociada a sordera <i>Ángela Camila Paredes, Greizy López, Nancy Gelvez, Marta Lucía Tamayo</i> .....	130
---	-----

Desarrollo físico y neuropsicológico de pacientes diagnosticados con hipotiroidismo congénito en el Hospital Universitario San Ignacio entre los años 2001 y 2017 <i>María Fernanda Unigarro, Catalina Forero, Camila Céspedes</i> .....	144
---	-----

Caracterización molecular de pacientes con cáncer colorrectal <i>Carlos Humberto Afanador, Katherine Andrea Palacio, Luis Fernando Isaza, Enoc Ahumada, Carlos Mauricio Ocampo, Carlos Mario Muñetón</i>	154
---	-----

# Contents

## Editorial

Inheritance of common diseases <i>Jaime Bernal-Villegas</i> .....	5
--	---

## Reporte de caso

Biopolymer sarcoid-like foreign-body granulomas: Case report and literature review <i>María Fernanda Corrales, Rodrigo Restrepo, Estefanía Calle, Daniela Morales</i> .....	8
Healing of a chronic ulcer of the lower limb of venous origin with fresh human amniochorionic membrane allograft <i>Alberto Piamo, Mayra García, Dayset Romero, Daisy Ferrer</i> .....	17

## Ensayo

Strengthening strategies of food security and food sovereignty in the context of the COVID-19 emergency in Colombia <i>Paula Andrea Castro, Julie Pauline Bustos, Paola Rueda-Guevara</i> .....	26
--	----

## Artículo original

Added value of coronal-T1W sequence to the lumbar MR imaging protocol for low back pain <i>Ahmet Nedim Kahraman, Ahmet Vural</i> .....	33
Psychometric properties of the Spanish version of the Type 2 Diabetes Stigma Assessment Scale (DSAS 2) in a Colombian population <i>Víctor Pedrero, Luz Marina Alonso, Jorge Manzi</i> .....	41
The effectiveness of serum S100B, TRAIL, and adropin levels in predicting clinical outcome, final infarct core, and stroke subtypes of acute ischemic stroke patients <i>Ozge Altintas Kadirhan, Okkes Taha Kucukdagli, Bedia Gulen</i> .....	55
Experience with the BIOMED-2 standardized polymerase chain reaction protocol for immunoglobulin and T- cell receptor clonality analysis in the Instituto Nacional de Cancerología, Colombia <i>Nicolás Villamizar-Rivera, Natalia Olaya</i> .....	64
Built environment interventions and physical activity levels: A systematic review <i>Susana Barradas, Diego Lucumí, Deivis Nicolás Guzmán-Tordecilla, Jeremy Young, Diana Pinzón</i> .....	79
Clinical-functional characterization of patients with spinal muscular atrophy in Central-Western Colombia <i>Natalia Cardona, Sandra Jhoana Ocampo, Jorge Mario Estrada, María Isabel Mojica, Gloria Lilibiana Porras</i> .....	89
Overweight and obesity: Family factors, diet, and physical activity in school children from middle to high socioeconomic level in Cali, Colombia <i>Adela Herrera, Consuelo Sarmiento</i> .....	100
Apolipoprotein E polymorphisms in adults over 60 years of age with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease in different Venezuelan populations <i>Silvia Martínez, Bárbara Ochoa, María Rafaela Pérez, Fátima Torrico, Ildemaro García, Carmen Cristina García</i> .....	116
Phenotypic characterization of retinitis pigmentosa associated with deafness <i>Ángela Camila Paredes, Greizy López, Nancy Gelvez, Marta Lucía Tamayo</i> .....	130
Neuropsychological and physical development of patients diagnosed with congenital hypothyroidism at the San Ignacio University Hospital between 2001 and 2017 <i>María Fernanda Unigarro, Catalina Forero, Camila Céspedes</i> .....	144
Molecular characterization of colorectal cancer patients <i>Carlos Humberto Afanador, Katherine Andrea Palacio, Luis Fernando Isaza, Enoc Ahumada, Carlos Mauricio Ocampo, Carlos Mario Muñetón</i>	154

## Editorial

### Herencia de las enfermedades comunes

Corría el año de 1962 y el navío norteamericano *USS Little Rock* se encontraba en un crucero por el Lejano Oriente. En el último puerto, seis meses antes de llegar de nuevo a casa, la tripulación decidió hacer un pícnic, pero dada la frecuencia de enfermedades infecciosas en esa región, el personal de cocina tomó todas las precauciones posibles. Poco después del pícnic, el crucero levó anclas y, en las siguientes horas, aparecieron los primeros casos de enfermedad diarreica. De los 1.276 tripulantes, 602 sufrieron la enfermedad, transmitida por dos de los cocineros que ocultaron su padecimiento para no perder la bajada a tierra firme. En las siguientes dos semanas se observó que diez de los enfermos desarrollaron la enfermedad de Reiter. La conclusión obvia fue que el agente patógeno involucrado, la bacteria *Shigella* spp., desencadenaba en alguna forma la artritis reactiva de Reiter.

Esta historia fue debidamente publicada (1), pero también olvidada durante 13 años, hasta que se conoció la asociación entre el antígeno HLA-B27 y la enfermedad de Reiter, Andrei Calin y James Fries (2). Entonces, comenzó la tarea de buscar a aquellos tripulantes que la habían contraído; encontraron a cinco, de los cuales cuatro resultaron positivos para el HLA B27, en tanto que uno de ellos, que había tenido la enfermedad, dio negativo y se encontraba libre de todo síntoma. El caso del *USS Little Rock* permite sacar varias conclusiones, la más importante y obvia es que tanto el B27 como la diarrea bacteriana son elementos instrumentales en la aparición del síndrome de Reiter. Ahora bien, dado que no todos los individuos con diarrea y positivos para el B27 tuvieron el síndrome, en tanto que uno de los negativos sí lo presentó, estaba claro que debía haber otros factores involucrados.

Pocos años después documentamos la asociación de la diabetes de tipo 1 con el factor B del complemento sérico, cuyo gen se encuentra en el cromosoma 6, cercano a los genes del HLA (3). Más recientemente, describimos también la asociación del HLA con el prurigo actínico, una fotodermatosis inducida por la exposición a la luz solar, más común en indios americanos y particularmente frecuente entre los indígenas chimila, cerca de Fundación, en el departamento del Magdalena (4,5). Estos son ejemplos de enfermedades comunes cuya etiología tiene un componente genético y otro ambiental, lo que en, términos de la genética clásica, se conoce como herencia multifactorial o poligénica. En este tipo de herencia se implican múltiples *loci* que contribuyen al fenotipo, cada uno de ellos con un efecto muy pequeño, pero cuya suma determinaría el riesgo individual y permitiría detectar los individuos con gran riesgo de desarrollar la enfermedad.

La secuenciación del genoma humano ha hecho posible comprobar que en él existen muchísimas variaciones entre individuos, las cuales, al contrario de las mutaciones, son muy frecuentes y de repercusión funcional posiblemente muy limitada o nula; de hecho, la mayor parte de esas

variaciones, o polimorfismos, se encuentra en regiones no codificantes del genoma. Las más conocidas son: los polimorfismos de nucleótido único (SNP), que consisten en el cambio de una base por otra y se dan por millones en el genoma; los polimorfismos de repetición en tándem, en los que una secuencia pequeña de nucleótidos (STR) o de número variable (VNTR) se repite en el genoma, y los polimorfismos de variación en el número de copias (CNV), que son segmentos de variaciones interindividuales en el número de copias de un determinado gen.

El análisis de estos polimorfismos y su posible asociación con enfermedades, comenzó por identificar genes candidatos y determinar si sus polimorfismos se asociaban con la presencia de la enfermedad. Sin embargo, la fuerza de las asociaciones de genotipo y fenotipo ha sido débil y su observación difícilmente se repite. El desarrollo de los microarreglos ha facilitado el análisis simultáneo, rápido y a bajo costo, de miles de SNP. Además, esta aproximación permite establecer las asociaciones sin tener que buscar los genes candidatos, pues los SNP están distribuidos en todos los cromosomas, por lo que se analiza, entonces, todo el genoma.

Estos microarreglos permiten analizar rápidamente todo el genoma de un grupo de pacientes con determinada enfermedad y compararlo con otro grupo similar sin la enfermedad. Tales estudios se llaman de asociación genómica, o *Genome-Wide Association Studies* (GWGA). Aunque se ha generado una gran expectativa sobre sus resultados, y son miles las series de pacientes y personas estudiadas (ver la lista en [www.genome.gov/GWASStudies](http://www.genome.gov/GWASStudies)), hay posiciones encontradas sobre los hallazgos. Por un lado, los estimativos de riesgo o vulnerabilidad varían, por lo general, a medida que se van caracterizando mejor las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Esto se hace evidente en el caso de la diabetes, cuyas primeras estimaciones de heredabilidad se calcularon en 0,75 (6), luego en 0,88 para la diabetes de tipo 1 (7) y en 0,26 para la de tipo 2 (8); en tanto que la diabetes de tipo MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*), que es de herencia dominante autosómica, tiene cerca de 14 subtipos (9). Debe recordarse, también, que se desconocen los factores ambientales y su papel en el desarrollo de la mayoría de las enfermedades, los cuales, además, pueden variar enormemente entre las distintas poblaciones y generaciones, por lo que es imposible tenerlos en cuenta para el cálculo de los riesgos. Pareciera, entonces, que el modelo de estudio del componente genético en la etiología de las enfermedades multifactoriales se está agotando y ya se requieren nuevas estrategias para continuar avanzando.

Por otro lado, en los últimos 20 años ha aparecido un nuevo actor en el panorama de la relación entre el genotipo y el fenotipo: la epigenética, definida como el estudio de los cambios heredables en la función de los genes que no se pueden explicar por cambios en la estructura del ADN. Los mecanismos epigenéticos ordenan la expresión o el silenciamiento de genes dentro de la célula, lo cual implica que cumplen una función en la embriogénesis y en los procesos de diferenciación celular, entre otros (10).

No es objeto de esta nota entrar en la descripción molecular de los mecanismos de la epigenética, baste decir que estos (metilación del ADN (11), modificaciones postranscripcionales de las proteínas de la histona y el ARN no codificador) responden directamente a cambios en el ambiente, lo cual quiere decir que no solo lideran los procesos de expresión génica, sino que también responden al ambiente que rodea al individuo.

Por mucho tiempo se pensó que el ambiente que incidía en la etiología de las enfermedades complejas era externo al individuo. Hoy se sabe que empieza en el interior de la célula y que la epigenómica del individuo cambia con la exposición a agentes externos, como la dieta, el ejercicio y los hábitos cotidianos, por ejemplo, fumar o beber alcohol. Ha sido en el campo del diagnóstico y el tratamiento del cáncer donde se ha visto más claramente el posible impacto de la epigenómica, y ya se tienen algunos mapas de regiones del genoma que son hipermetiladas o hipometiladas en el transcurso del desarrollo de un cáncer (12). Parece claro, entonces, que, a pesar de las luces que se perciben, la tarea de dilucidar de mejor manera la extraordinaria complejidad de la enfermedad humana se ha hecho más compleja.

Jaime Bernal Villegas, M.D., Ph.D.

Universidad del Sinú, sede Cartagena de Indias, Colombia

### Referencias

1. Noer HR. An "experimental" epidemic of Reiter syndrome. *JAMA*. 1966;198:69
2. Calin A, Fries J. An "experimental" epidemic of Reiter syndrome revisited: Follow-up evidence on genetic and environmental factors. *Ann Intern Med*. 1976;84:564-6. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-84-5-564>
3. Bernal JE, Ellis DA, Haigh J. Bf in insulin-dependant diabetes. *Lancet*. 1979;2:961. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(79\)92657-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(79)92657-6)
4. Bernal JE, Durán-de Rueda MM, Ordóñez CP, Durán C, de Brigard D. Actinic prurigo among the Chimila indians in Colombia. HLA studies. *J Am Acad Dermatol* 1990;22:1049-51. [https://doi.org/10.1016/0190-9622\(90\)70150-g](https://doi.org/10.1016/0190-9622(90)70150-g)
5. Durán MM, Bernal J. HLA typing in actinic prurigo. *J Am Acad Dermatol*. 1992;26:658. [https://doi.org/10.1016/s0190-9622\(08\)80803-1](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(08)80803-1)
6. Harvald B, Hauge M. Hereditary factors elucidated by twin studies. En: Neel J, Shaw M, Schull W, *et al.* (Editors) *Genetics to Epidemiological Studies of Chronic Diseases*. Washington D.C.: Public Health Service Publications No 1163; 1965. p. 61-76.
7. Hyttinen V, Kaprio J, Kinnunen L, Koskenvuo M, Tuomilehto J. Genetic liability of type 1 diabetes and the onset age among 22,650 Young Finnish twin pairs: A nationwide follow-up study. *Diabetes* 2003;52:1052-5. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.4.1052>
8. Poulsen P, Kyvik KO, Vaag A, Beck-Nielsen H. Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance – a population-based twin study. *Diabetologia*. 1999;42:139-45. <https://doi.org/10.1007/s001250051131>
9. Urakami, T. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): Current perspectives on diagnosis and treatment. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2019;12:1047-56.
10. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, *et al.* Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:17046-9.
11. Tobi EW, Lumey LH, Talens RP, Kremer D, Putter H, Stein AD, *et al.* DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Hum Mol Genet*. 2009;18:4046-53.
12. Fraga MF, Herranz M, Espada J, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, *et al.* A mouse skin multistage carcinogenesis model reflects the aberrant DNA methylation patterns of human tumors. *Cancer Res*. 2004;64:5527-34.

Presentación de caso

## Reacción granulomatosa de tipo sarcoideo secundaria a biopolímeros: reporte de caso y revisión de la literatura

María Fernanda Corrales, Rodrigo Restrepo, Estefanía Calle, Daniela Morales  
Grupo de Investigación, Universidad CES, Medellín, Colombia

La alogenesis iatrogénica es la enfermedad causada por la aplicación de biopolímeros con fines estéticos. Sus manifestaciones clínicas pueden presentarse entre las seis horas y los 30 años posteriores a la aplicación, con síntomas locales o sistémicos. El principal rasgo de la histopatología es la presencia de granulomas por cuerpo extraño con reacción de tipo sarcoideo, la cual es difícil de interpretar por su asociación con la sarcoidosis. Se reporta aquí el caso de una paciente con lesiones granulomatosas de tipo sarcoideo por reacción a cuerpo extraño, secundaria a la aplicación de múltiples sustancias desconocidas en cara y glúteos.

**Palabras clave:** granuloma de cuerpo extraño; biopolímeros; sarcoidosis.

### **Biopolymer sarcoid-like foreign-body granulomas: Case report and literature review**

Iatrogenic alloegenesis is a disease caused by the injection of biopolymers with esthetic purposes. Clinical manifestations can occur between six hours and 30 years after the procedure with local and/or systemic symptoms. The pathological findings are characterized by the presence of foreign body granulomas with a sarcoid-like reaction. Its interpretation is difficult given its association with sarcoidosis. We report the clinical case of a female patient with granulomatous lesions in reaction to a foreign body secondary to the multiple application of unknown substances on the face and buttocks.

**Keywords:** Granuloma, foreign body; biopolymers; sarcoidosis.

Durante años se han explorado materiales en busca de una sustancia que no sea alérgica, carcinogénica, ni inflamatoria, que no produzca reacciones a cuerpo extraño y proporcione volumen y contorno en diversas áreas del cuerpo según la necesidad y deseo del paciente. Sin embargo, los materiales utilizados, como la silicona líquida, el colágeno, el metilmetacrilato y el gel de poliacrilamida, entre otros, se han asociado con numerosas complicaciones.

En este contexto, las reacciones autoinmunitarias producen cambios histológicos que conducen a la aparición, en las etapas iniciales, de macrófagos con material oleoso en el citoplasma y, cuando la inflamación es crónica, a la formación de granulomas (1). Los granulomas secundarios a cuerpo extraño se manifiestan clínicamente como induraciones, nódulos e irregularidades que pueden ser la única manifestación. No obstante, el espectro clínico del término “alogenosis iatrogénica” incluye un gran número de manifestaciones, tanto locales como sistémicas, que pueden producir desde cambios leves hasta deformidad y falla multiorgánica.

### **Caso clínico**

Se reporta el caso de una mujer de 50 años, previamente sana, que consultó inicialmente con un cuadro clínico de un año de evolución consistente en la aparición de lesiones nodulares dolorosas en párpados, frente y surcos nasogenianos, las cuales fueron aumentando progresivamente de tamaño hasta convertirse en una pequeña úlcera en la región temporal derecha que drenaba un material viscoso. La paciente refería, además, la aparición de otros nódulos más pequeños, asintomáticos, en las mejillas, el cuello y el dorso de las manos, que habían cambiado en los últimos meses.

Relataba, asimismo, que hacía más de diez años le había sido inyectado material de relleno para mejorar las líneas de expresión de los párpados, el

**Recibido:** 11/03/2021  
**Aceptado:** 25/08/2021  
**Publicado:** 01/09/2021

#### **Citación:**

Corrales MF, Restrepo R, Calle E, Morales D. Reacción granulomatosa de tipo sarcoideo secundaria a biopolímeros: reporte de caso y revisión de la literatura. *Biomédica*. 2022;42(Supl.1):8-16.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.6059>

#### **Correspondencia:**

Daniela Morales, Calle 40 B N° 15-73, Medellín, Colombia  
Teléfono: (301) 209 8370  
danielamoralesrpo2@gmail.com

#### **Contribución de los autores:**

Rodrigo Restrepo: descripción histológica  
Todos los autores participaron en la descripción clínica, la revisión del caso y la redacción del manuscrito.

#### **Financiación:**

No se recibieron recursos.

#### **Conflicto de intereses:**

Los autores declaran que no tienen intereses en conflicto.

entrecejo, la frente y los pliegues nasolabiales. La paciente desconocía el producto que le habían aplicado y ya había sido tratada con prednisolona y siete ciclos de ciclofosfamida intravenosa ante la sospecha de sarcoidosis relacionada con la aplicación del material de relleno, pero no había habido mejoría clínica con estas terapias.

En el momento de la evaluación, refería que su calidad de vida y su autoestima se veían muy afectadas, lo que la había llevado al aislamiento social y a tratar de ocultar sus lesiones con grandes lentes de sol y abundante maquillaje.

En el examen físico presentaba múltiples placas y nódulos eritematosos, bien definidos, indurados y adheridos a planos profundos, localizados en las regiones frontal, periorbitaria, interiliar, temporal y malar, y en los surcos nasogenianos. Llamaba la atención una úlcera de 0,5 cm con costra hemática superficial en la región temporal derecha que, al ser presionada, drenaba un líquido cetrino de consistencia oleosa. También, se observaban cientos de nódulos normocrómicos, subcutáneos, menores de 1 cm en mejillas, cuello, pecho, antebrazos y el dorso de ambas manos (figura 1).

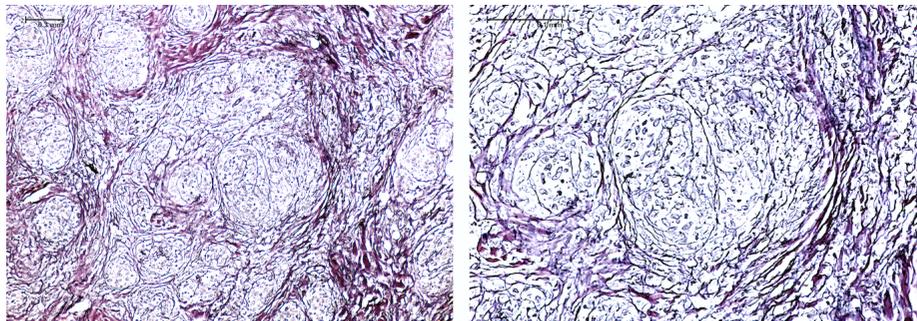
Se le practicó una resonancia magnética con contraste de tejidos blandos en cara y cuello, en la cual se evidenció un proceso inflamatorio con presencia de nódulos y reacción a cuerpo extraño en el tejido celular subcutáneo en las áreas cigomática, orbitaria e infrapalpebral, y en las dos bolsas de Bichat. En el pilar amigdalino izquierdo, se encontró engrosamiento y un nódulo de 8 mm de diámetro, así como múltiples ganglios sublinguales y en el mediastino superior, menores de 5 mm.

En la ecografía de tejidos blandos, se encontraron en la cara múltiples lesiones pseudonodulares en “tormenta de nieve”, dispersas en las regiones frontal, periorbitaria y malar, de predominio derecho, sugestivas de inyección de agentes exógenos.

La biopsia de piel evidenció epidermis ortoqueratósica de grosor normal sin cambios significativos. En la dermis papilar y reticular media y profunda, se encontraron múltiples granulomas desnudos conformados por histiocitos epitelioides con escasos linfocitos de aspecto maduro y células gigantes multinucleadas del tipo de cuerpo extraño. Se reconocieron, además, histiocitos macrovacuolados y microvacuolados y algunos cuerpos asteroides.



**Figura 1.** Múltiples placas y nódulos eritematosos, bien definidos, indurados y adheridos a planos profundos, los cuales estaban localizados en las regiones frontal, periorbitaria, interiliar, temporal y malar, y los surcos nasogenianos



**Figura 2.** Hallazgos de reacción granulomatosa a cuerpo extraño (material de relleno) de tipo sarcoideo

La coloración del retículo resaltó la reticulina alrededor de los granulomas y, ocasionalmente, en su interior. Además, las tinciones de Ziehl-Neelsen, PAS y plata metenemina, con controles positivos adecuados, fueron negativas para hongos y bacilos ácido-alcohol resistentes. Los hallazgos, sin ser diagnósticos, son los de una reacción granulomatosa a cuerpo extraño (material de relleno), de tipo sarcoideo (figura 2).

Además, para descartar la sarcoidosis sistémica, se hicieron estudios con tomografía computarizada de pulmones y pruebas para determinar los niveles de la enzima convertidora de angiotensina, la 1,25 dihidroxivitamina D, el calcio sérico y el calcio urinario en 24 horas, los cuales se encontraron dentro de los límites normales. Con base en los hallazgos, la impresión diagnóstica fue la de una alojenosis o reacción granulomatosa a cuerpo extraño que simulaba una sarcoidosis cutánea localizada.

Se inició el tratamiento con 200 mg de hidroxicloroquina cada 12 horas, 0,5 mg de colchicina cada 12 horas y tacrolimus al 0,1 % aplicado en ungüento tópico en la noche. Tres meses más tarde, la paciente mostraba una excelente tolerancia a los medicamentos, habían desaparecido completamente los nódulos del cuello y las extremidades superiores, y el eritema y el dolor de las lesiones en la cara habían disminuido. Sin embargo, continuaba muy insatisfecha con su aspecto físico, por lo que se decidió adicionar 50 mg/día de talidomida al tratamiento.

Con la talidomida, la paciente presentó una mejoría clínica muy significativa, pero tuvo que ser suspendida cuatro meses después de su inicio por la aparición de una neuropatía periférica sensitiva confirmada en la electromiografía de control, síntoma que no aparecía en el estudio basal. La neuropatía se resolvió completamente al suspender el tratamiento y no hubo empeoramiento de las lesiones en la piel.

Después de meses de estabilidad clínica con la hidroxicloroquina y la colchicina, se procedió a la extracción quirúrgica de los nódulos restantes, a cargo de especialistas en oftalmología oculoplástica y cirugía plástica, con excelentes resultados cosméticos y recuperación de la autoestima de la paciente (figura 3).



**Figura 3.** Mejoría marcada de las lesiones después del tratamiento médico y quirúrgico

### **Consideraciones éticas**

La paciente firmó el consentimiento informado autorizando el uso de sus datos y de sus fotografías con fines académicos.

### **Discusión**

La alojenosis iatrogénica, término acuñado por el doctor Felipe Coiffman en el 2008, comprende los efectos secundarios a la aplicación de biopolímeros o sustancias alógenas por el personal de la salud (2). La mayoría de las complicaciones por el uso de estas sustancias se debe a su aplicación por parte de personal no médico y, también, se la ha denominada alojenosis secundaria, enfermedad por sustancias modeladoras, enfermedad por sustancias de relleno o enfermedad por adyuvantes. En la actualidad, la alojenosis es una condición reconocida en todo el mundo, especialmente en Latinoamérica, en donde es clara la ausencia de control sanitario de los productos que se aplican y del personal que practica los procedimientos (3).

La popularidad de los procedimientos estéticos, especialmente cuando son de bajo costo, ha provocado un aumento exponencial en el número de complicaciones secundarias al uso de sustancias para moldear y de relleno, precipitando un extenso problema de salud pública en Colombia, a pesar del subdiagnóstico, aunque es evidente el incremento de la incidencia de complicaciones.

Los biopolímeros son moléculas derivadas del petróleo, de origen vegetal o sintético (4). Antes se creía que eran productos inertes que permitían el moldeamiento de la cara y el cuerpo según el deseo y la necesidad de cada paciente. Sin embargo, con el transcurso del tiempo, se ha demostrado que estas sustancias no son inocuas y originan complicaciones a corto y a largo plazo, incluidas infecciones, reacciones a cuerpo extraño, deformidad física, alteraciones orgánicas y enfermedades autoinmunitarias (5).

El primer reporte de complicaciones secundarias a la aplicación de estas sustancias lo presentó Balzer en 1886, quien describió la presencia de induraciones cutáneas producidas por sustancias oleosas. Otros autores, como Mook y Wander, describieron en 1920 la presencia de tumores blandos en pacientes a los que se les habían aplicado inyecciones de aceite de alcanfor y, en 1928, Woringer hizo referencia a granulomas como reacción a cuerpo extraño. Actualmente, México es el país que más publica sobre las complicaciones de esta enfermedad y el Hospital General de México se ha convertido en centro de referencia en la atención de los pacientes que la presentan (6).

Ante la presencia de las sustancias empleadas para moldear, el cuerpo presenta una reacción inflamatoria aguda y una crónica. La reacción inflamatoria inicial se produce en el intento de encapsular el material extraño, induciendo cambios fenotípicos de las células fagocíticas, lo que lleva a su transformación en células gigantes multinucleadas (5). La fase aguda se caracteriza por la migración de neutrófilos y la presencia de exudado proteico, en tanto que, en la fase crónica, aparecen cúmulos de linfocitos y monocitos que finalmente se diferencian en macrófagos, produciendo la liberación de citocinas e interferón gama (INF-gamma) y alfa (INF-alfa), lo que resulta en la formación de granulomas (7).

Con el depósito de material antigénico en el tejido, se inicia la formación del granuloma; las células mononucleares presentadoras de antígenos fagocitan dicho material por endocitosis y las proteínas antigénicas son degradadas por proteasas en los lisosomas para ser presentadas por el complejo mayor de histocompatibilidad II a los linfocitos T CD4+, lo cual desencadena una respuesta Th1, con producción de INF-gama, o una Th2 con producción de IL-4, IL-5 o IL-13, dependiendo de la naturaleza de la sustancia inyectada (7).

Dado el espectro de la alo genesis iatrogénica, se cree que las manifestaciones clínicas del paciente son consecuencia del estado inmunológico previo; se producen cuadros clínicos leves y otros graves, con periodos de reagudización desencadenados por traumas, infecciones, u otras sustancias o antígenos que llevan a la activación del sistema inmunitario y a la pérdida de la tolerancia inmunológica y el reconocimiento de antígenos externos (como las sustancias de relleno), o de antígenos propios, produciendo así la enfermedad reumática. Se considera que los pacientes con antecedentes familiares reumatológicos tienen mayor riesgo de desarrollar una reacción inmunológica exagerada, por lo que se debería evitar el uso de sustancias de relleno en ellos (8).

Las sustancias alógenas se han relacionado con fenómenos autoinmunitarios como esclerosis sistémica, artritis reumatoide, lupus y fibromialgia, entre otros (5). En el 2013, se acuñó el término “síndrome de ASIA”, el cual incluye enfermedades inmunomediadas desencadenadas por un estímulo adyuvante, e incluye mialgias, artralgias, fatiga crónica, alteraciones neurológicas asociadas con la desmielinización, deterioro cognitivo, boca seca y fiebre, así como el inicio de enfermedades reumatológicas con presencia de autoanticuerpos, hallazgos histopatológicos sugestivos, y mejoría sintomática cuando se retira el agente antigénico (9).

El doctor Coiffman estudió 342 pacientes con alo genesis iatrogénica en Bogotá y encontró que el 95 % de ellos no sabía qué sustancia les había sido inyectada, el 70 % de las aplicaciones habían estado a cargo de cosmetólogas y, el 30 %, de médicos, incluidos dermatólogos, cirujanos plásticos, otorrinolaringólogos y odontólogos (2).

Según reportes, las complicaciones pueden ocurrir entre seis horas y hasta 30 años después de la aplicación y pueden ser tanto locales como sistémicas. Las manifestaciones locales incluyen dolor, eritema, pigmentación, edema, fibrosis, cicatrización queloide, infecciones, fístulas, necrosis de piel y desplazamiento del material, y las manifestaciones generales, fiebre, dolor generalizado, artralgias, malestar general, aumento de la caída del cabello, depresión y migración del material inyectado, entre otros (2,6). Las zonas más comúnmente afectadas son glúteos, extremidades inferiores, abdomen, párpados, región malar y labios (10).

Los materiales de relleno se clasifican en reabsorbibles (meses o años) y permanentes. Entre las sustancias de relleno absorbibles, se encuentran el tejido graso autólogo, el injerto dermograso, el colágeno bovino, el colágeno autólogo, el ácido poliláctico, la hidroxiapatita de calcio y el ácido hialurónico, y entre las de relleno permanentes, se encuentran el polietilmetacrilato, la silicona, el polimetilsiloxilano, el gel de poliacrilamida, el petrolato, la vaselina y la parafina, entre otros (11) (cuadro 1). Como la mayoría de los pacientes desconocen qué material les fue inyectado y qué tipo en particular, se debe recurrir al apoyo histopatológico para documentar la presencia de una reacción inflamatoria a cuerpo extraño, además de estudios imagenológicos y de otros tipos, para definir su extensión y la naturaleza precisa de la sustancia inyectada.

La técnica espectroscópica de resonancia magnética permite diferenciar la estructura química de las sustancias, y proporciona información sobre el número y tipo de moléculas en una muestra. En un estudio observacional, transversal y descriptivo realizado en el Hospital General de México, se analizó la sustancia infiltrada por medio de espectrometría de resonancia magnética en 18 pacientes y se estableció el tipo de sustancia infiltrada en los tejidos. Se encontró que, en el 35 % de ellos, los granulomas fueron secundarios a la inyección de aceite comestible, en el 40 %, a aceite mineral, en el 15 %, a silicona y, en el otro 15 %, a la combinación de aceites comestibles y silicona (12).

En otro estudio clínico, transversal y descriptivo llevado a cabo en el mismo hospital, se utilizó una escala para evaluar las lesiones producidas por la infiltración de sustancias para moldear, la cual resultó útil para estadificar la enfermedad y determinar el pronóstico del paciente, así como para la toma de decisiones terapéuticas. Se trata de un sistema de puntuación según la cantidad de sustancia infiltrada, las zonas infiltradas, el tipo de sustancia, los síntomas y signos del paciente, las alteraciones en los resultados de laboratorio y los hallazgos en la resonancia magnética. El estadio 1 (6-10 puntos) incluye los pacientes con buen pronóstico y mejoría clínica con el tratamiento médico. El estadio 2 (11-17 puntos) incluye a aquellos con pronóstico reservado y buena mejoría clínica con el tratamiento médico, pero que pueden requerir cirugía. El estadio 3 (18-23 puntos) cubre a aquellos con pronóstico reservado que requieren manejo quirúrgico, y el estadio 4 (24-26 puntos), a aquellos con mal pronóstico, que pueden morir por falla orgánica múltiple (13).

**Cuadro 1.** Hallazgos histopatológicos según tipo de biopolímero

Sustancia	Hallazgos histopatológicos
Colágeno bovino	Masa eosinofílica, no birrefringente
Ácido hialurónico	Sustancia basófila sin estructura cuando es superficial, rara formación de granulomas
Ácido polil-L-láctico (PLLA)	Material cristalino, birrefringente positivo, formación de granulomas de células epitelioides con células gigantes rodeadas por fibrosis
Hidrogel acrílico	Partículas poliédricas que forman granulomas tardíos, densos con células gigantes, áreas necróticas y hendiduras de colesterol
Polimetilmetacrilato (PMMA)	Partículas poligonales, irregulares, traslúcidas, descritas como vidrio roto, con poco tejido fibrótico, con pocas células gigantes que contienen cuerpos en su citoplasma
Poliacrilamida (PAAG)	Material basófilo ondulado
Silicona	Formación de granulomas con células gigantes sin partículas en su interior e infiltrados linfocíticos perivasculares
Parafina/vaselina	Células epitelioides y células gigantes asociadas con infiltrado linfocítico y fibrosis

\*Basada en (13,14)

Entre los diagnósticos diferenciales es importante distinguir la reacción granulomatosa generada por biopolímeros o materiales de relleno y el liposarcoma o lipoesclerosis, cuya diferenciación requiere, en ocasiones, una correlación clínica e histológica rigurosa (14). También, se deben tener en cuenta condiciones como la tuberculosis, la erisipela, la lepra lepromatosa, la neurofibromatosis, la esclerosis tuberosa, la amiloidosis, y la sarcoidosis, entre otras (15).

La sarcoidosis es una enfermedad multisistémica, con compromiso pulmonar, ganglionar, ocular, hepático, cardíaco, óseo, y del sistema nervioso central y la piel. Sin embargo, hasta el momento no tiene una definición clara por su gran variabilidad sintomática y la ausencia de métodos diagnósticos con la suficiente sensibilidad y especificidad (16). Se debe considerar un diagnóstico de exclusión, ya que los granulomas por cuerpo extraño pueden generar manifestaciones sistémicas e histológicas similares a las de la sarcoidosis, aunque estas no se asocian con la presencia de linfadenopatías generalizadas, esplenomegalia o compromiso oftalmológico y óseo. Hallazgos como el de lesiones que aparecen años después de la aplicación del material extraño y la detección de granulomas birrefringentes en microscopía polarizada, también favorecen el diagnóstico (17).

Otra dificultad del diagnóstico de los granulomas por cuerpo extraño es la descripción histopatológica del 'tipo sarcoideo'. En algunos estudios, se ha determinado que la diferenciación entre la sarcoidosis y una reacción de tipo sarcoideo se basa en el perfil de riesgo genético e inmunológico del paciente frente al desarrollo de la sarcoidosis (13,14). Por lo tanto, todo reporte histopatológico de una reacción de tipo sarcoideo obliga al médico a descartar una sarcoidosis sistémica, la cual se puede presentar incluso años después de una reacción sarcoideo. Aunque no existen exámenes de laboratorio específicos que permitan descartar sarcoidosis, algunos de ellos son útiles para su diferenciación (18) (cuadro 2).

Tampoco el tratamiento se encuentra establecido y solo se cuenta con tratamientos no estandarizados, la mayoría basados en reportes de caso con resultados reproducibles. Desde la perspectiva de la sarcoidosis cutánea, podemos extrapolar los resultados que se obtienen con la talidomida, medicamento que parece afectar la producción de citocinas, inhibiendo selectivamente el TNF-alfa; su acción es rápida, pero su eficacia a largo plazo se desconoce (21). Otras terapias reportadas incluyen corticoesteroides tópicos y orales, infiltraciones con esteroides, cloroquina, hidroxicloroquina, alopurinol, metotrexato, isotretinoína, tetraciclinas, imiquimod y etanercept. Los reportes mexicanos de cirugía plástica han planteado el manejo de la enfermedad según su gravedad y la extracción quirúrgica de la sustancia infiltrada, con mejores resultados cuando esta se hace antes de que se presenten complicaciones.

**Cuadro 2.** Métodos diagnósticos para sarcoidosis

<b>Antígeno carcino embrionario(18)</b>	<b>Test de Kveim-Siltzbach (19)</b>	<b>Gammagrafía de galio (20)</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Positivo también en diabetes mellitus, enfermedad de Gaucher, hipertiroidismo, enfermedad alcohólica grave, silicosis, histoplasmosis, beriliosis, lepra y linfangiomatosis</li> <li>• Permite el monitoreo de la actividad de la enfermedad y la reacción al tratamiento.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inoculación intradérmica de una suspensión obtenida a partir de tejido esplénico</li> <li>• Positivo en el 70 a 90 % de pacientes con sarcoidosis</li> <li>• Falsos positivos de 0,7 a 2 %</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Positivo también en linfomas, carcinomas, tuberculosis, neumonía y silicosis</li> <li>• Cuando se combina el ACE con la gammagrafía de galio, se aumenta la especificidad a 99 %.</li> </ul>

En una serie de casos en el Hospital Universitario de Caracas, el Hospital Vargas de Caracas y la Clínica El Ávila, se reportaron 75 pacientes que presentaban complicaciones relacionadas con la inyección de biopolímeros. En ella se recomendó iniciar la aproximación diagnóstica con exámenes de hemoglobina libre en suero, PCR, prueba de velocidad de sedimentación globular (VSG), de anticuerpos antinucleares (ANA), de C3, C4, CH50, de anticuerpos anti-dsDNA, anti-ENA, anti-CCP, de niveles séricos de silicona, de TNF e IL-1, cultivo de secreciones (si existe) y resonancia magnética (RM) del sitio afectado. En el estudio, se sugiere iniciar el tratamiento con corticoesteroides orales de baja potencia (deflazacort), en dosis entre 12 y 15 mg por 30 a 45 días, y hacer una PCR, una prueba de VSG y una RM a los 45 días. Si los niveles de reactantes de fase aguda persisten elevados, la recomendación es administrar azatriopina, colchicina, talidomida, hidroxycloroquina o micofenolato de mofetilo como monoterapia o en combinación. Después del control de los reactantes y la RM a los tres meses, se recomienda iniciar la ciclofosfamida o la terapia biológica con anti-TNF-alfa si hay indicios de enfermedad activa (22).

### Conclusión

La alojenosis iatrogénica es una enfermedad cuya incidencia y prevalencia han aumentado en Colombia debido al gran número de procedimientos estéticos que se practican y la falta de regulación sanitaria de los productos y el personal encargado. Es una enfermedad compleja con consecuencias, no solo estéticas, sino económicas, productivas, psicológicas y sociales, y manifestaciones clínicas que van desde lo local a lo sistémico, acompañadas, en ocasiones, de enfermedades reumatológicas *de novo*.

Una de las mayores dificultades para su detección es la aparición de síntomas años después de la aplicación del producto, usualmente sustancias muy antigénicas con bajo grado de biocompatibilidad. Debe desplegarse un alto grado de sospecha para poder detectarla tempranamente, orientar correctamente el tratamiento y educar a los pacientes sobre las consecuencias de usar productos que no son seguros y recurrir a personal poco entrenado en este tipo de procedimientos.

### Referencias

1. Domínguez-Zambrano A, Haddad-Tame JL, Torres-Baltazar I, Jiménez- Muñoz G, Satri-Ortiz N, Espinosa-Maceda S. Enfermedad por modelantes: problemática actual en México y presentación de casos. *Cir Plást Iberolatinoam*. 2013;39:399-405. <https://doi.org/10.4321/S0376-78922013000400010>
2. Coiffman F. Alojenosis iatrogénica: una nueva enfermedad. *Cir Plást Iberolatinoam*. 2008;34:1-10.
3. Sanz-Barriga HA, Revilla CPE. Alojenosis iatrogénica, el gran peligro de los biopolímeros. *Revista Científica Ciencia Médica*. 2010;13:31-4.
4. Duarte y Sánchez A, Hamid Hedo-Toledo A, Pradel-Mora J, Gómez-Recilla V. Complicación tardía tras infiltración de biopolímeros en glúteos. *Cir Plást Iberolatinoam*. 2016;42:385-9.
5. Castaño-Ramírez DA, Cobo DA, Peñaloza JA, Rivera DA, Villota AI. Alojenosis iatrogénica Vs. alojenosis secundaria en Cali. A propósito de 12 casos. *Colombia Forense*. 2016;3:63-74. <https://doi.org/10.16925/cf.v3i2.1778>
6. Gordillo-Hernández J, Alegre-Tamez E, Torres-Baltazar I, Mendieta-Espinosa MJ, Sastre-Ortiz N. Abordaje multidisciplinario de la enfermedad humana por infiltración de sustancias modelantes. *Cir Plást Iberolatinoam*. 2013;39:269-77. <https://doi.org/10.4321/S0376-78922013000300009>
7. Moller DR. Treatment of sarcoidosis - from a basic science point of view. *J Intern Med*. 2003;253:31-40. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.2003.01075.x>

8. Nora S, Giovanni M. Alogenosis iatrogénica, hallazgos de una enfermedad reumática. 2015. Revista Colombiana de Cirugía Plástica y Reconstructiva. 2015. Fecha de consulta: 15 marzo del 2021. Disponible en: <https://www.ciplastica.com/filedownload/downloadfile/fileid/264/filenum/0/src/@random52dd5d30ea034>
9. Perricone C, Colafrancesco S, Mazor RD, Soriano A, Agmon-Levin N, Shoenfeld Y. Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA) 2013: Unveiling the pathogenic, clinical and diagnostic aspects. J Autoimmun. 2013;47:1-16. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2013.10.004>
10. Merino JE, Alcalá-Pérez D, González-González KL, Aparicio-Garcilazo C. Lipogranuloma esclerosante por modelantes. Revista del Centro Dermatológico Pascua. 2007;16:5.
11. Zimmermann US, Clerici TJ. The histological aspects of fillers complications. Semin Cutan Med Surg. 2004;23:241-50. <https://doi.org/10.1016/j.sder.2004.09.004>
12. Priego BRB, Cárdenas RJ, Cerezo RP, Rincón-Lozano R, Torres-Gómez B, Haddad JL. Enfermedad humana por modelantes. Análisis de sustancias con espectrometría de resonancia magnética. Cirugía Plástica. 2010;20:120-3.
13. Tchernev G, Tana C, Schiavone C, Cardoso J-C, Ananiev J, Wollina U. Sarcoidosis vs. sarcoid-like reactions: The two sides of the same coin? Wien Med Wochenschr. 2014;164:247-59. <https://doi.org/10.1007/s10354-014-0269-x>
14. Tchernev G, Wollina U. Bacterial antigens and molecular mimicry: the bridging common problematic link in the pathogenesis of sarcoidosis and sarcoid-like reactions: Isn't it time to wake up? Wien Med Wochenschr. 2014;164:260-2. <https://doi.org/10.1007/s10354-014-0283-z>
15. Gómez BT, Vargas RB, Ramírez GM, Priego BRB. Instrumento para evaluar y estadificar el daño producido por la infiltración de sustancias modelantes. Cirugía Plástica. 2010;20:105-11.
16. Mustacchio V, Cabibi D, Minervini MI, Barresi E, Amato S. A diagnostic trap for the dermatopathologist: Granulomatous reactions from cutaneous microimplants for cosmetic purposes. J Cutan Pathol. 2007;34:281-3. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0560.2006.00607.x>
17. Jham BC, Nikitakis NG, Scheper MA, Papadimitriou JC, Levy BA, Rivera H. Granulomatous foreign-body reaction involving oral and perioral tissues after injection of biomaterials: A series of 7 cases and review of the literature. J Oral Maxillofac Surg 2009;67:280-5. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2008.01.052>
18. Schewach-Millet M, Ziv R, Trau H, Zwas ST, Ronnen M, Rubinstein I. Sarcoidosis versus foreign-body granulomas. Int J Dermatol. 1987;26:582-5. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4362.1987.tb02310.x>
19. Marcoval J, Graells J, Mañá J, Baumann E, Moreno A, Peyrí J. Valor actual del test de Kveim en el diagnóstico de la sarcoidosis. Actas Dermo-Sifilográficas. 2003;94:642-5.
20. Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS), the European Respiratory Society (ERS) and the World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders (WASOG) adopted by the ATS Board of Directors and by the ERS Executive Committee, February 1999. Statement on sarcoidosis. Am J Respir Crit Care Med. 1999;160:736-55. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.2.ats4-99>
21. Nguyen YT, Dupuy A, Cordoliani F, Vignon-Pennamen MD, Lebbé C, Morel P, *et al.* Treatment of cutaneous sarcoidosis with thalidomide. J Am Acad Dermatol. 2004;50:235-41. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2003.07.006>
22. Gutiérrez-González LA, Pérez-Alfonso R, Párraga-de Zoghbi B. Iatrogenic allogenic case report. Research. 2014;1:753. <https://doi.org/10.13070/rs.en.1.753>

## Presentación de caso

# Curación de úlcera venosa crónica de la pierna con aloinjerto de membrana amniocoriónica humana fresca

Alberto Piamo<sup>1</sup>, Mayra García<sup>2</sup>, Dayset Romero<sup>3</sup>, Daisy Ferrer<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Materno-infantil de Amazonas, Puerto Ayacucho, Venezuela

<sup>2</sup> Servicio de Gineco-obstetricia, Hospital Materno-infantil de Amazonas, Puerto Ayacucho, Venezuela

<sup>3</sup> Servicio de Enfermería, Ambulatorio "Jacinto Convit", San Antonio de Cúa, Venezuela

<sup>4</sup> Facultad de Ciencias Médicas "ICBP Victoria de Girón", Universidad de Ciencias Médicas, La Habana, Cuba

En su estado fresco, la membrana amniocoriónica contiene varias células multipotenciales, factores de crecimiento y proteínas de la matriz extracelular que contribuyen a la cicatrización de las úlceras vasculares crónicas. Para demostrar su efectividad, se recurrió a un aloinjerto de membrana placentaria humana fresca para tratar una úlcera venosa crónica, de 12 x 10 cm y con 40 años de evolución, en el zona maleolar interna e izquierda de una paciente de 89 años de edad. Transcurridos 60 días del injerto, la úlcera se encontraba cicatrizada en el 100 % de su superficie, observándose una cicatriz rosada clara en cuyos bordes se apreciaron intentos de pigmentación. El aloinjerto de membrana amniocoriónica humana fresca es una alternativa terapéutica para la curación de úlceras vasculares crónicas persistentes en las extremidades inferiores.

**Palabras claves:** úlcera varicosa; aloinjertos; amnios.

## Healing of a chronic ulcer of the lower limb of venous origin with fresh human amniochorionic membrane allograft

In its fresh state, the amniochorionic membrane contains various multipotential cells, growth factors, and extracellular matrix proteins that contribute to the healing of chronic vascular ulcers. To demonstrate its effectiveness, a fresh human placental membrane allograft was applied to a chronic venous ulcer in the lower limb of an 89-year-old female patient with a 12 x 10 cm ulcerated lesion of 40 years of evolution in the malleolar area of her left lower limb. Sixty days after the graft, the ulcer was healed in 100% of its surface and a light pink scar on the edges indicated possible pigmentation. Fresh human amniochorionic membrane allograft is a therapeutic alternative for the healing of refractory chronic vascular ulcers of the lower extremities.

**Keywords:** Varicose ulcer; allografts; amnion.

Las úlceras venosas crónicas en las piernas son lesiones abiertas de la extremidad inferior (1), localizadas entre la rodilla y la articulación del tobillo que permanecen sin cicatrizar durante al menos 30 días (2) y son causadas por insuficiencia venosa crónica (3,4). Estas lesiones pueden tardar meses o años en sanar y son propensas a la recurrencia (5), por lo que se convierten en una carga económica notable para los pacientes y los sistemas sanitarios (6).

Las intervenciones complementarias ampliamente utilizadas en la curación de este tipo de úlceras incluyen apósitos para heridas con componentes activos (los llamados apósitos avanzados para heridas), antimicrobianos locales o sistémicos y cirugía venosa (7).

Considerando que las guías de la *Wound Healing Society* recomiendan considerar terapias avanzadas para heridas si la úlcera no disminuye de tamaño en el 40 % o más después de cuatro semanas de terapia estándar (8), y que la *Society for Vascular Surgery*, la *American Podiatric Medical Association* y la *Society for Vascular Medicine* recomiendan la terapia adyuvante si el área de la herida no se reduce en más del 50 % después de un mínimo de cuatro semanas de tratamiento estándar (9), se decidió ofrecer un aloinjerto de membrana amniocoriónica humana fresca para tratar una úlcera venosa con 40 años de evolución en el miembro inferior izquierdo de

**Recibido:** 15/09/2021

**Aceptado:** 04/04/2022

**Publicado:** 06/04/2022

### Citación:

Piamo A, García M, Romero D, Ferrer D. Curación de úlcera crónica de extremidad inferior de origen venoso con aloinjerto de membrana amniocoriónica humana fresca. *Biomédica*. 2022;42:17-25.

<https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/6319>

### Correspondencia:

Alberto Piamo, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Materno-infantil de Amazonas, Puerto Ayacucho, Venezuela  
Teléfono: (+58) (412) 389 8706  
b51amazonas@gmail.com

### Contribución de los autores:

Alberto Piamo: conceptualización, curaduría de datos, investigación, metodología, administración del proyecto, software y visualización  
Mayra García y Daisy Ferrer Marrero: curaduría de datos  
Dayset Romero: investigación del caso  
Todos los autores participaron en el análisis formal y la redacción del manuscrito.

### Financiación:

No se recibió ningún tipo de financiamiento.

### Conflicto de intereses:

Se declara que no existe ningún conflicto de intereses.

una paciente de 89 años de edad, para evaluar su eficacia como tratamiento de cicatrización.

### Presentación de caso

Se trata de una paciente de 89 años de edad, de piel negra y antecedentes de demencia senil, que presentaba una lesión ulcerada de 12 x 10 cm y con 40 años de evolución en el área maleolar interna del miembro inferior izquierdo. La lesión era piriforme, con base inferior, bordes elevados y socavada en su centro en 2 mm, fondo hemorrágico y costroso alternado con zonas de exudado blanquecino adherido; hacia su periferia, se observaban áreas pálidas costrosas y, en la parte inferior, hiperqueratosis exuberante, en tanto que la piel circundante se encontraba hiperpigmentada (figura 1).

Según refirieron los familiares, desde que apareció la úlcera la paciente había presentado múltiples complicaciones, entre las que destacaban la celulitis, la lipodermatoesclerosis, la miasis recurrente y la formación de microabscesos, por lo que requería frecuentemente múltiples ciclos de tratamientos antibióticos (amoxicilina, azitromicina, ciprofloxacino) y de medicina tradicional que habían producido ligeros intentos de cicatrización. La paciente había utilizado intermitentemente medias compresivas, pero desde la aparición de su demencia, fue imposible convencerla de ponérselas de nuevo.

El diagnóstico de la úlcera fue fundamentalmente clínico, pues no se contaba con la posibilidad de estudios de ultrasonido Doppler, y se basó en los siguientes criterios diagnósticos: presencia de enfermedad venosa primaria (varicosidades por encima de la lesión hasta la rodilla y lipodermatoesclerosis con el signo de botella de champaña invertida); localización, dimensiones y aspecto de la úlcera (sobre las prominencias óseas, irregular y superficial, con granulación y fibrina en la base); tiempo y forma de evolución; presencia de pulsos periféricos, y ausencia de antecedentes de diabetes o traumatismos.

Antes de la aplicación de la membrana, no se administró ningún tipo de antibiótico de forma tópica ni sistémica y, solo después de aplicada la membrana, se le administró tratamiento antibiótico: una tableta de levofloxacino de 500 mg cada 12 horas por vía oral durante 10 días.



**Figura 1.** Lesión ulcerada de 40 años de evolución en región maleolar izquierda



**Figura 2.** Proceso de disección de la membrana amniótica

### **Procuramiento y preparación del injerto**

La membrana amniocoriónica se obtuvo de una donante sometida a una cesárea electiva. Horas antes del inicio de la intervención quirúrgica, a ella se le ofreció información amplia y detallada del uso que se le daría a la membrana placentaria, y su aceptación de la donación quedó expresada en la firma de un documento de consentimiento informado.

En el quirófano se extrajo la placenta bajo condiciones estériles y se depositó en una mesa auxiliar sobre un paño estéril para, posteriormente, diseccionarla separándola de la placenta (figura 2)

Durante la inducción anestésica, se obtuvieron muestras para las pruebas serológicas de HIV-1, HIV-2, HCV, HTLV, sífilis (VDRL y TPHA) y HBV (anticuerpos anti-HBs y anti-HBc). No se consideraron válidos los exámenes serológicos controlados en el último trimestre de embarazo por el riesgo de seroconversión al final del embarazo.

La membrana se lavó tres veces con solución salina al 0,9 % para eliminar restos de sangre. Posteriormente, se dividió en dos fragmentos que se introdujeron en un recipiente estéril que contenía 500 ml de solución salina al 0,9 % y 48 mg de cotrimoxazol, 50 mg de tobramicina y 50 mg de vancomicina, según el método empleado por Rodríguez, *et al.* (10). La membrana amniocoriónica permaneció 24 horas a una temperatura de 4 °C en dicha solución.

Según las normas técnicas generales del Ministerio de Salud de Chile para la consecución, preservación e implante de tejidos (11), la membrana amniocoriónica obtenida puede mantenerse refrigerada de 36 a 48 horas como máximo después de su obtención, bajo refrigeración entre 2 y 8 °C.

En el momento previo a la implantación de la membrana, esta se lavó tres veces con solución salina al 0,9 % para eliminar restos de la solución con antibióticos en que se preservaba. Se descartaron los fragmentos o partes de estos que contuvieran sangre infiltrada, desgarros u otras alteraciones.

### **Implantación de la membrana amniocoriónica**

Se hizo la limpieza de la úlcera mediante enjuague con solución salina fisiológica estéril, y se procedió al desbridamiento con bisturí de los tejidos necróticos, seguido de un lavado con una solución suave de yodo-povidona (figura 3).

La membrana estéril se implantó asépticamente en el lecho de la úlcera para cubrir toda la superficie de la lesión y el exceso se cortó a la medida con tijeras. Se tuvo el cuidado de evitar la presencia de burbujas de aire debajo de la membrana y esta se aseguró mediante seis puntos de sutura de nailon 3.0 en sus bordes.

La lesión se dejó al descubierto durante unos minutos y luego se cubrió con una gasa con vaselina y una capa de vendaje. La gasa se cambió cada 24 horas hasta el quinto día y, luego, la herida se dejó al descubierto. Tanto la implantación de la membrana como el seguimiento de la paciente fueron ambulatorios y domiciliarios. Se requirió un único injerto de membrana amniocoriónica.



**Figura 3.** Aplicación de membrana Implantación de la membrana amniocoriónica



**Figura 4.** Reabsorción de la membrana

### **Valoración de la cicatrización**

Se hizo seguimiento a diario para determinar el tamaño de la úlcera y la tasa de curación. La superficie de la úlcera (largo, ancho y profundidad) se midió en centímetros con una regla graduada, y su área se calculó multiplicando el ancho por el largo. Se definió como curación parcial la reducción del área de la úlcera en un 50 % o menos y, como curación completa, la cicatrización de toda la superficie cruenta.

### **Evolución del injerto**

Tras la aplicación del aloinjerto, no hubo signos clínicos locales ni sistémicos de infección o eventos adversos y la lesión evolucionó de la siguiente forma. En el tercer día, la membrana amniocoriónica comenzó a reabsorberse y había desaparecido completamente en el área de mayor profundidad (centro) (figura 4). Hacia el quinto día, se observó reabsorción de la membrana amniocoriónica en los bordes de la úlcera y, en el séptimo, esta se había reabsorbido casi en su totalidad. En el décimo día de evolución, la membrana se había absorbido completamente y la lesión había comenzado a cicatrizar a partir de los bordes, sobre todo en la parte superior. Además, se había formado un exuberante tejido de granulación (figura 5). Hacia el día 30, el proceso de cicatrización había alcanzado el 50 % de la lesión. El centro todavía profundo que se veía en la imagen del décimo día de evolución, se encontraba sellado por un tejido rosado fibroso brillante. En las áreas no cicatrizadas, se observaba un tejido de granulación de buena calidad, sin secreción ni signos clínicos de infección (figura 6).

Durante todo el proceso de cicatrización, se hizo la valoración clínica diaria y se observaron discretas modificaciones en el tejido, hasta que, en el día 60 después de la implantación del aloinjerto de membrana amniótica humana fresca, la úlcera estaba cicatrizada en toda su superficie y se había formado una cicatriz rosada clara en cuyos bordes se apreciaron intentos de pigmentación (figura 7).



**Figura 5.** Proceso de cicatrización en el décimo día



**Figura 6.** Día 30 de evolución: cicatrización del 50 % de la úlcera



**Figura 7.** Cicatrización del 100 % de de toda la superficie de la úlcera

### Consideraciones éticas

La paciente y sus familiares otorgaron la autorización para comunicar y difundir la experiencia y los resultados obtenidos con la aplicación del aloinjerto de membrana amniocoriónica en una úlcera venosa crónica de la pierna. El permiso para el uso de los datos clínicos de la paciente, así como de las imágenes de la evolución de la lesión, se obtuvo mediante un documento de consentimiento informado.

### Discusión

En su estado fresco, las membranas amniocoriónicas contienen varias células multipotenciales, factores de crecimiento y proteínas de la matriz extracelular que contribuyen a la cicatrización, además de niveles crecientes de inhibidores de metaloproteinasas de matriz que, en el entorno de la herida, estimulan la proliferación y la migración de células promotoras de la angiogénesis y tienen la capacidad de suprimir reacciones inflamatorias irregulares o no controladas (12); es decir, tienen propiedades antiinflamatorias y antifibróticas (13). El valor de estas características se ve aumentado por el hecho de que las membranas placentarias también son antimicrobianas y no son inmunogénicas (14), lo cual permite su uso como injerto alogénico.

Dada esta evidencia y el alto costo de los tratamientos estándar que no producen la curación completa de la lesión, las membranas amniocoriónicas representan una alternativa versátil, efectiva, asequible, duradera y rápida para el cierre de las úlceras venosas crónicas. Se ha hecho un número considerable de pruebas clínicas para evaluar la seguridad y la eficacia de estas membranas en el contexto de heridas agudas (15), úlceras de pie diabético (16) y úlceras venosas en las piernas (17). Además, los estudios demuestran una mayor tasa de cicatrización de las lesiones en pacientes tratados con membranas amniocoriónicas que con la terapia estándar y los sustitutos de piel (18,19).

En el caso que aquí se informa, la úlcera de miembro inferior tenía 40 años de evolución y había una considerable pérdida de tejido, el cual se había vuelto senescente en el proceso de inflamación o proliferación,

perdiendo la capacidad de epitelización después de múltiples medidas terapéuticas, algunas indicadas por el personal médico y otras recogidas de las prácticas populares para la curación de estas lesiones.

Luego de la aplicación de la membrana amniocoriónica, el cierre completo de la úlcera se produjo en un lapso de 60 días. Este resultado es similar al de otros reportes hallados en la literatura. Por ejemplo, en un estudio piloto prospectivo, Mermet, *et al.* (20), se evaluaron la seguridad, la viabilidad y los efectos sobre la curación del injerto de membrana amniocoriónica en 15 pacientes con úlceras venosas crónicas en las piernas. El porcentaje de tejido de granulación aumentó significativamente (de 17 % en el día 0 a 69 % en el día 14;  $p < 0,0001$ ), y hubo una disminución significativa de la descamación fibrinosa (del 36 % en el día 0 al 16 % en el día 14;  $p < 0,001$ ), así como del tamaño de la úlcera y la intensidad del dolor.

Por su parte, Alsina, *et al.* (21), hicieron aloinjertos de membrana amniótica en cuatro úlceras vasculares resistentes al tratamiento. En una de las úlceras, la reepitelización completa de la herida se logró en la semana 8; en los otros tres casos, hubo una reducción del 50 % del tamaño en comparación con el valor inicial. En la semana 16, la reducción media en el tamaño de la herida en las cuatro úlceras fue del 81,93 %. La reducción correspondiente en la intensidad del dolor fue del 86,6 %.

El Heneidy, *et al.* (22), desarrollaron un estudio controlado, en el cual ninguna de las úlceras del grupo de control mostró reducción en su tamaño. En el grupo experimental, hubo curación completa de 14 úlceras en 14 a 60 días, con una media de  $33,3 \pm 14,7$ .

En el estudio de Barbosa, *et al.* (23), se evaluó la eficacia del implante de membrana amniótica humana en el proceso inflamatorio, la proliferación de fibroblastos, la formación de colágeno y la reducción de las áreas de heridas de la piel en ratas. El análisis histológico reveló una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) en el infiltrado inflamatorio en el grupo experimental en todos los períodos de estudio, en comparación con el grupo de control. Además, en el grupo experimental se presentó un aumento significativo de la proliferación de fibroblastos y del reemplazo de colágeno de tipo III por colágeno de tipo I.

La utilidad de las membranas amniocoriónicas deshidratadas en el tratamiento de las úlceras venosas crónicas, fue evaluada por Serena, *et al.* (24), en el 2014. Se trató de un estudio clínico aleatorizado y controlado en 84 pacientes, en el cual se comparó este tipo de aloinjerto aunado al tratamiento estándar con el tratamiento estándar solo. En la semana 4, el 62 % de los pacientes en el grupo con aloinjerto de membranas deshidratadas más tratamiento estándar y el 32 % en el grupo con tratamiento estándar solo, mostraron más del 40 % de cierre de la herida ( $p = 0,005$ ). Además, el grupo con membranas amniocoriónicas y aloinjerto más tratamiento estándar tuvo una reducción de tamaño promedio de 48,1 %, en comparación con el 19 % en el grupo de tratamiento estándar solo. Las úlceras venosas de la pierna tratadas con aloinjerto tuvieron una mejora significativa en la cicatrización a las cuatro semanas, en comparación con la terapia de compresión multicapa sola.

En un estudio posterior, Serena, *et al.* (25), evaluaron la correlación correcta entre una tasa intermedia de reducción de la herida (reducción del 40 % del área de la herida después de cuatro semanas de tratamiento) y la curación completa a las 24 semanas, en pacientes con úlcera venosa crónica de la pierna. De 44 pacientes, 20 (45,4 %) presentaron un tamaño de herida

reducido mayor o igual al 40 % y, 24 (55 %), una reducción menor del 40 % durante el estudio inicial. La curación completa ocurrió en 16 de 20 (80 %) pacientes del grupo con reducción mayor o igual al 40 %, con una media de 46 días ( $p=0,0027$ ) y, en 8 de 24 (33,3 %) del grupo con menos de 40 % de reducción, con una media de 103,6 días ( $p=0,0023$ ).

En el presente estudio, se empleó membrana amniocoriónica fresca; sin embargo, ha habido experiencias de resultados variables con membranas procesadas (criopreservación, almacenamiento hipotérmico y deshidratación, o acelular). Es por ello que tanto el procesamiento como la composición de los injertos amnióticos han suscitado un importante debate. Se presume que el procesamiento altera la composición proteómica y, en consecuencia, puede afectar el funcionamiento de los injertos (26). Según McQuilling, *et al.* (27), la mayoría de los productos de membranas placentarias disponibles en el mercado son obtenidos por deshidratación o liofilización, lo que altera las características en diversos grados; las capas incluidas en estos injertos varían y la mayoría contiene un amnios, o amnios y coriones de doble capa, o la capa de amnios sola.

En los estudios de Lim, *et al.* (28), Russo, *et al.* (29), y Paolin, *et al.* (30), se ha comparado el amnios deshidratado con el amnios fresco o el criopreservado, y se encontraron cambios significativos en la estructura de las membranas, así como una disminución en el contenido de citocinas después de la deshidratación. Según Allen, *et al.* (31), después de la criopreservación, las membranas presentan el 77 % de disminución en las proteínas, en comparación con las membranas frescas.

En cuanto a la seguridad del injerto de membrana amniocoriónica fresca, se ha podido concluir que es un procedimiento seguro, como lo constataron Mermet, *et al.* (20), y Alsina, *et al.* (21), al reportar la ausencia de efectos adversos con la implantación de la membrana fresca.

Según Therani, *et al.* (32), aunque la membrana amniótica intacta siempre ha sido una opción adecuada para muchos estudios clínicos y experimentales, las modificaciones adicionales permiten ampliar sus aplicaciones. Sin embargo, los altos costos de estos productos comerciales limitan el acceso a esta terapia, por lo que la aplicación de membranas placentarias frescas resulta una indiscutible alternativa, ya que, con métodos de procesamiento de bajo costo, se puede garantizar la seguridad biológica adecuada (ausencia de agentes microbiológicos) para su uso en humanos.

Por tal motivo, es necesario aportar evidencia sobre alternativas a los productos comerciales y procurar la disponibilidad de membranas placentarias para los pacientes de bajos recursos, con el fin de ofrecerles la oportunidad de curación y la disminución de los problemas de discapacidad que ocasionan las úlceras crónicas de los miembros inferiores. En el caso que se describe, se demostró la acción efectiva de la membrana amniocoriónica en una úlcera intratable de 40 años de evolución.

## Conclusión

El aloinjerto de membrana amniocoriónica humana fresca es una alternativa terapéutica para la curación de las úlceras vasculares crónicas persistentes de extremidades inferiores. Su implantación no se asocia con efectos adversos y se puede obtener a un menor costo que las membranas comerciales procesadas.

## Referencias

1. Nelson EA, Adderley U. Venous leg ulcers. *BMJ Clin Evid.* 2016;2016:1902.
2. Stechmiller JK, Lyon D, Schultz G, Gibson DJ, Weaver MT, Wilkie D, et al. Biobehavioral mechanisms associated with nonhealing wounds and psychoneurologic symptoms (pain, cognitive dysfunction, fatigue, depression, and anxiety) in older individuals with chronic venous leg ulcers. *Biol Res Nurs.* 2019;21:407-19. <https://doi.org/10.1177/1099800419853881>
3. Raffetto JD, Ligi D, Maniscalco R, Khalil RA, Mannello F. Why venous leg ulcers have difficulty healing: Overview on pathophysiology, clinical consequences, and treatment. *J Clin Med.* 2020;10:29. <https://doi.org/10.3390/jcm10010029>
4. Sen CK. Human wound and its burden: Updated 2020 Compendium of Estimates. *Adv Wound Care.* 2021;10:281-92. <https://doi.org/10.1089/wound.2021.0026>
5. Leren L, Johansen E, Eide H, Falk RS, Juvet LK, Ljoså TM. Pain in persons with chronic venous leg ulcers: A systematic review and meta-analysis. *Int Wound J.* 2020;17:466-84. <https://doi.org/10.1111/iwj.13296>
6. Probst S, Weller CD, Bobbink P, Saini C, Pugliese M, Buehrer SM, et al. Prevalence and incidence of venous leg ulcers -a protocol for a systematic review. *Syst Rev.* 2021;10:148. <https://doi.org/10.1186/s13643-021-01697-3>
7. Lazarus G, Valle F, Malas M, Qazi U, Maruthur N, Zenilman J, et al. Chronic venous leg ulcer treatment: Future research needs: Identification of future research needs from comparative effectiveness review No. 127. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2013.
8. Steed DL, Attinger C, Colaizzi T, Crossland M, Franz M, Harkless L, et al. Guidelines for the treatment of diabetic ulcers. *Wound Repair Regen.* 2006;14:680-92. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2006.00176.x>
9. Hingorani A, LaMuraglia GM, Henke P, Meissner MH, Loretz L, Zinszer KM, et al. The management of diabetic foot: A clinical practice guideline by the Society for Vascular Surgery in collaboration with the American Podiatric Medical Association and the Society for Vascular Medicine. *J Vasc Surg.* 2016;63:3-21. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2015.10.003>
10. Rodríguez M. Membrana amniótica en úlceras crónicas de pie diabético. Tesis de Grado. Alicante: Universidad Miguel Hernández; 2017.
11. Ministerio de Salud de Chile. Departamento Ges y Redes de Alta Complejidad. Norma general técnica para el procuremento, preservación e implante de tejidos. Santiago de Chile: Ministerio de Salud; 2018.
12. Koob TJ, Rennert R, Zabeck N, Masee M, Lim JJ, Temenoff JS, et al. Biological properties of dehydrated human amnion/chorion composite graft: implications for chronic wound healing. *Int Wound J.* 2013;10:493-500. <https://doi.org/10.1111/iwj.12140>
13. Zare-Bidaki M, Sadrinia S, Erfani S, Afkar E, Ghanbarzade N. Antimicrobial properties of amniotic and chorionic membranes: A comparative study of two human fetal sacs. *J Reprod Infertil.* 2017;18:218-24.
14. Schulze U, Hampel U, Sel S, Goecke TW, Thäle V, Garreis F, et al. Fresh and cryopreserved amniotic membrane secrete the trefoil factor family peptide 3 that is well known to promote wound healing. *Histochem Cell Biol.* 2012;138:243-50. <https://doi.org/10.1007/s00418-012-0943-2>
15. McQuilling JP, Kammer M, Kimmerling KA, Mowry KC. Characterisation of dehydrated amnion chorion membranes and evaluation of fibroblast and keratinocyte responses in vitro. *Int Wound J.* 2019;16:827-40. <https://doi.org/10.1111/iwj.13103>
16. Branski LK, Herndon DN, Celis MM, Norbury WB, Masters OE, Jeschke MG. Amnion in the treatment of pediatric partial-thickness facial burns. *Burns.* 2008;34:393-9. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2007.06.007>
17. Zelen CM, Serena TE, Gould L, Le L, Carter MJ, Keller J, et al. Treatment of chronic diabetic lower extremity ulcers with advanced therapies: A prospective, randomised, controlled, multi-centre comparative study examining clinical efficacy and cost. *Int Wound J.* 2016;13:272-82. <https://doi.org/10.1111/iwj.12566>
18. Kogan S, Sood A, Granick MS. Amniotic membrane adjuncts and clinical applications in wound healing: A review of the literature. *Wounds.* 2018;30:16873.

19. DiDomenico LA, Orgill DP, Galiano RD, Serena TE, Carter MJ, Kaufman JP, *et al.* Aseptically processed placental membrane improves healing of diabetic foot ulcerations: Prospective, randomized clinical trial. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2016;4:1095. <https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000001095>
20. Mermet I, Pottier N, Sainthillier JM, Malugani C, Cairey-Remonnay S, Maddens S, *et al.* Use of amniotic membrane transplantation in the treatment of venous leg ulcers. *Wound Repair Regen.* 2007;15:459-64. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00252.x>
21. Alsina GM, Pedregosa FS. Aplicación de membrana amniótica en el tratamiento de las úlceras crónicas de extremidades inferiores. *Actas Dermosifiliogr.* 2012;103:608-13. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2012.01.010>
22. El Heneidy H, Omran E, Halwagy A, Al-Inany H, Al-Ansary M, Gad A. Amniotic membrane can be a valid source for wound healing. *Int J Womens Health.* 2016;8:225-31. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S96636>
23. Barbosa M, de Alencar J, Maia A, Cabral D, Barros L, Alencar de Oliveira R, *et al.* Effects of the application of the amniotic membrane in the healing process of skin wounds in rats. *Acta Cir Bras.* 2018;33. <https://doi.org/10.1590/s0102-865020180020000006>
24. Serena TE, Carter MJ, Le LT, Sabo MJ, DiMarco DT, EpiFix VLU Study Group. A multicenter, randomized, controlled clinical trial evaluating the use of dehydrated human amnion/chorion membrane allografts and multilayer compression therapy vs. multilayer compression therapy alone in the treatment of venous leg ulcers. *Wound Repair Regen.* 2014;22:688-93. <https://doi.org/10.1111/wrr.12227>
25. Serena TE, Yaakov R, DiMarco D, Le L, Taffe E, Donaldson M, *et al.* Dehydrated human amnion/chorion membrane treatment of venous leg ulcers: Correlation between 4-week and 24-week outcomes. *J Wound Care.* 2015;24:530-4. <https://doi.org/10.12968/jowc.2015.24.11.530>
26. Johnson A, Gyurdieva A, Dhall S, Danilkovitch A, Duan-Arnold Y. Understanding the impact of preservation methods on the integrity and functionality of placental allografts. *Ann Plast Surg.* 2017;79:203-13. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000001101>
27. McQuilling JP, Vines JB, Kimmerling KA, Mowry KC. Proteomic comparison of amnion and chorion and evaluation of the effects of processing on placental membranes. *Wounds.* 2017;29:38-42.
28. Lim LS, Poh RW, Riau AK, Beuerman RW, Tan D, Mehta JS. Propiedades biológicas y ultraestructurales del acelainjerto, una membrana amniótica humana irradiada con  $\gamma$  liofilizada. *Arch Oftalmol.* 2010;128:1303-10.
29. Russo A, Bonci P, Bonci P. The effects of different preservation processes on the total protein and growth factor content in a new biological product developed from human amniotic membrane. *Cell Tissue Bank.* 2012;13:353-61. <https://doi.org/10.1007/s10561-011-9261-5>
30. Paolin A, Trojan D, Leonardi A, Mellone S, Volpe A, Orlandi A, *et al.* Cytokine expression and ultrastructural alterations in fresh-frozen, freeze-dried and  $\gamma$ -irradiated human amniotic membranes. *Cell Tissue Bank.* 2016;17:399-406. <https://doi.org/10.1007/s10561-016-9553-x>
31. Allen CL, Clare G, Stewart EA, Branch MJ, McIntosh OD, Dadhwal M, *et al.* Augmented dried versus cryopreserved amniotic membrane as an ocular surface dressing. *PLoS ONE.* 2013;8:e78441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078441>
32. Therani TF, Firouzeh A, Shabani I, Shabani A. A review on modifications of amniotic membrane for biomedical applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;8:606982. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.606982>

Ensayo

## Estrategias de fortalecimiento de la seguridad y la soberanía alimentaria en medio de la pandemia de COVID-19 en Colombia

Paula Andrea Castro<sup>1,2</sup>, Julie Pauline Bustos<sup>3</sup>, Paola Rueda-Guevara<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centre d'Estudis Demogràfics, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, España

<sup>2</sup> Salud Poblacional, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Consultora independiente, Bogotá, D.C., Colombia

En medio de la emergencia sanitaria producida por la COVID-19 en Colombia, se generaron estrategias para el fortalecimiento de la seguridad y la soberanía alimentaria. Entre los mecanismos adoptados por las comunidades urbanas, rurales y los gobiernos locales se encuentran las formas alternativas en la obtención de alimentos -como el trueque- el cual ha facilitado el intercambio entre territorios de alimentos producidos por los campesinos. A su vez, en Bogotá, se han estado fortaleciendo los mercados campesinos que han permitido llevar a los hogares urbanos alimentos producidos por los campesinos de Tolima, Meta y Boyacá fomentando los circuitos cortos de comercialización y el pago justo a los productores. A pesar de estas alternativas, las manifestaciones para visibilizar el hambre de los hogares se han hecho presentes. Un ejemplo de ello fueron los trapos rojos en las puertas y ventanas de las casas que alertaron sobre la situación de buena parte de colombianos y han alentado la solidaridad entre vecinos.

Finalmente, la posición de la academia ha sido vanguardista vinculando de manera directa a los campesinos en procesos por la garantía del derecho a la alimentación en Colombia.

**Palabras clave:** seguridad alimentaria y nutricional; abastecimiento de alimentos; pandemias.

### Strengthening strategies of food security and food sovereignty in the context of the COVID-19 emergency in Colombia

In the midst of the health emergency caused by COVID-19 in Colombia, strategies have been generated to strengthen food security and sovereignty. Among the mechanisms adopted by urban and rural communities and local governments are alternative ways of obtaining food, one of which is trueque, which allows the exchange of food produced by peasants between territories. In Bogotá, the mercados campesinos have been strengthened, which have made it possible to bring food produced by peasants in Tolima, Meta and Boyacá to urban households, promoting short marketing circuits and fair payment to producers. In spite of these alternatives, the demonstrations to make visible the hunger of the households emerged the trapos rojos (red rags) in the houses, which have alerted about the situation of a good part of Colombians and have encouraged solidarity among neighbors.

The position of academia has been avant-garde, directly involving peasants in processes to guarantee the right to food in Colombia.

**Keywords:** Food and nutrition security; food supply; pandemics.

Colombia, como muchos otros países de la región y del mundo, decretó el aislamiento preventivo obligatorio el 24 de marzo del 2020 (1) para hacer frente a la velocidad de contagio de la COVID-19 y, durante más de un año, el país se aisló de manera intermitente para frenar su contagio (2). Por cuenta de este confinamiento, en los hogares colombianos se incrementó la inseguridad alimentaria, ya vergonzosa desde antes de la pandemia, pues su prevalencia era del 52 % a nivel nacional según datos de la Encuesta de Situación Nutricional -ENSIN- 2015 (3).

En la actualidad, la inseguridad alimentaria sigue siendo una constante para las personas en condiciones de vulnerabilidad. En febrero del 2021, el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) reveló que tan solo el 2 % de los hogares vulnerables en Colombia cubrían sus necesidades alimentarias, pues 2,4 millones de personas ingerían menos de tres comidas diarias con respecto a marzo del 2020, cuando se inició la pandemia. Además, cerca de 9.000 hogares no tendrían siquiera cómo cubrir una comida diaria (4). Es pertinente anotar que las condiciones socioeconómicas

**Recibido:** 18/03/2021

**Aceptado:** 29/09/2021

**Publicado:** 05/10/2021

#### Citación:

Castro PA, Bustos JP, Rueda-Guevara P. Estrategias de fortalecimiento de la seguridad y la soberanía alimentarias en medio de la pandemia de COVID-19 en Colombia. *Biomédica*. 2022;42:26-32.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.6041>

#### Correspondencia:

Paola Rueda-Guevara, Carrera 7b No 123-90, piso 3, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (571) 603 0303  
yp.rueda@uniandes.edu.co

#### Contribución de los autores:

Todas las autoras participaron en la concepción, el diseño, la redacción y la aprobación final del manuscrito.

#### Financiación:

Ninguna.

#### Conflicto de intereses:

Las autoras declaran no tener conflictos de intereses.

de muchos de los hogares son precarias por los niveles de informalidad laboral y desempleo, que según los datos disponibles, se ubicaban en el 49,2 y el 15,9 %, respectivamente, en febrero del 2021, es decir, un aumento de cerca de un punto porcentual en la primera y de tres en el segundo, con respecto al año inmediatamente anterior (5).

En respuesta a esta crisis, el aparato institucional desarrolló estrategias como la entrega de paquetes alimentarios para las familias, especialmente las más vulnerables. En Bogotá, la Secretaría de Integración Social entregó paquetes alimentarios de contingencia para 26 días, con un aporte de 1.080 calorías diarias (6). En Medellín, la entrega de paquetes alimentarios se canalizó a través del Programa de Buen Comienzo, enfocado, en este caso, en niños menores de cinco años, mujeres gestantes y madres lactantes (7), en tanto que instituciones privadas como la Fundación Éxito entregaron más de 48.000 paquetes de alimentos para la primera infancia vulnerable (8). También, se fortalecieron ejercicios de organización social que han originado estrategias para garantizar el derecho a la alimentación.

Cabe resaltar que las secretarías de atención social de ciudades y municipios entregaron apoyos alimentarios con base en estrategias diseñadas desde antes de la pandemia para facilitar el acceso y el consumo de una alimentación completa, equilibrada, suficiente, adecuada e inocua, por lo que no constituyeron un mecanismo novedoso. Por el contrario, antes de la pandemia, los bonos monetarios canjeables por alimentos incluían: los paquetes con aceite, arroz y leguminosas, los comedores comunitarios y la entrega de comida caliente eran programas existentes, por ejemplo, en Bogotá (9). Dichas medidas, sin embargo, deben complementarse con otras que potencien la autonomía y la soberanía alimentaria, y reconozcan los contextos locales de un país tan diverso como el nuestro, en aras de garantizar el derecho a la alimentación.

La seguridad alimentaria y nutricional es la disponibilidad, el acceso y el consumo oportuno, permanente, suficiente, estable e inocuo de alimentos, en la cantidad y calidad necesarias para su adecuada utilización biológica y para llevar una vida saludable y activa (10). Además, según Nyélény, la soberanía alimentaria es:

“El derecho de los pueblos a alimentos nutritivos y culturalmente adecuados, accesibles, producidos de forma sostenible y ecológica, y su derecho a decidir su propio sistema alimentario y productivo. Esto pone a aquellos que producen, distribuyen y consumen alimentos en el corazón de los sistemas y políticas alimentarias, por encima de las exigencias de los mercados y de las empresas. Defiende los intereses de, e incluye a, las futuras generaciones” (11).

Estos dos enfoques se complementan y dan cuenta de lo que sería el goce efectivo del derecho a la alimentación.

En este contexto, el objetivo del presente ensayo fue describir ejemplos de liderazgo comunitario que han contribuido a garantizar el derecho a la alimentación y la seguridad y soberanía alimentaria, y fortalecer el tejido social en Colombia en el marco de la emergencia sanitaria de la COVID-19.

### **Formas alternativas en la obtención de alimentos**

La forma de obtener los alimentos ha sido el cambio más importante en el sistema agroalimentario colombiano de cara a la emergencia por la COVID-19.

Algunos mecanismos adoptados por las comunidades urbanas y rurales, así como por los gobiernos locales, han resultado muy acertados para abastecer a la población. Entre ellos, se destaca el trueque y el uso de las redes sociales y plataformas que acercan a los productores y los consumidores.

Es el caso de los mercados itinerantes que no requieren de mobiliario fijo, los mercados campesinos permanentes en las tradicionales plazas de mercado y los mercados campesinos alternativos que recurren a plataformas digitales o al servicio a domicilio (12).

Asimismo, vale la pena mencionar la donación de alimentos a los bancos de alimentos y las formas alternativas que contribuyen a la prevención y reducción de pérdidas y desperdicios de alimentos, tales como los protocolos de asesoría técnica y gestión del crédito para empresas, el acompañamiento a las pequeñas superficies y tiendas de barrio, y la educación para evitar el desperdicio de alimentos, todas estas iniciativas lideradas por las entidades gubernamentales (13).

Sin embargo, también se han observado desaciertos institucionales, pues en pos de satisfacer las necesidades nutricionales de las comunidades, se ha favorecido a la industria alimentaria por encima de los productores locales, como se evidencia en la asistencia alimentaria brindada por el gobierno de Bogotá en unión con una industria alimentaria en julio del 2020 (14).

### **Trueque**

Con la aparición de la agricultura en el neolítico, se introdujo el trueque como una estrategia de intercambio alimentario que permitía compartir alimentos y saciar el hambre, además de expandir costumbres y construir territorio (15). La recuperación del trueque es positiva en términos alimentarios, aunque no elimine la necesidad del dinero. Desde el inicio de la pandemia se ha detectado la práctica del trueque en algunos municipios del departamento de Cundinamarca: en los municipios de Ubaté y Útica, se intercambiaron 1.800 panelas por 4.000 yogures; en Villapinzón y Villeta, se cambiaron 105 bultos de papa por 50 cajas de panela; en Sopó, un grupo de mujeres confeccionó tapabocas que fueron entregados en Guasca a cambio de 12 bultos de zanahoria, papa y mazorca. Estos trueques han sido impulsados por los gobiernos locales, por ejemplo, durante el 2020 y parte del 2021, Jaime Torres, alcalde de Ubaté, los promovió con los municipios de Bituima y Mesitas del Colegio, entre otros (16). En Frontino (Antioquia), el trueque comenzó a hacerse dentro del municipio cuando un voluntario colocó dos mesas frente a su casa, una con alimentos para quien los requiriera y otra para la donación voluntaria de alimentos (17).

En ese sentido, el Consejo Regional Indígena del Cauca ha planteado cómo los trueques y los intercambios en la comunidad han permitido hacer frente a la crisis (18). Al norte del país, en la Sierra Nevada de Santa Marta, los indígenas kankuamos empezaron a intercambiar productos ancestrales como mochilas de fique y lana por alimentos no perecederos y útiles básicos de aseo a un precio justo, en lo que constituye no solo un ejercicio de trueque sino de recuperación y preservación de saberes ancestrales (19).

### **Mercados campesinos**

Otra estrategia importante ha sido el fortalecimiento de los mercados campesinos. En Bogotá, ante el aislamiento decretado como medida de control del Estado contra la propagación del coronavirus, surgieron dinámicas

de reorganización de los mercados campesinos mediante las cuales las asociaciones campesinas organizaron, conjuntamente con la Alcaldía Mayor y la Secretaría de Desarrollo Económico, mercados campesinos móviles.

Esta iniciativa transformó el mercado campesino tradicional, basado en la instalación de pequeños puestos para la venta de productos en carpas que se levantan temporalmente en espacios de la ciudad, con el fin de distribuir los productos de la canasta básica familiar por medio del servicio a domicilio: el comprador solicitaba por teléfono o por internet los alimentos, el pedido era enviado a su hogar y allí se efectuaba el pago. Por este medio se comercializaron más de 660 mercados en 14 localidades de la capital (20), con lo que se contribuyó a la seguridad alimentaria de las familias, se redujo la cadena de comercialización evitando los intermediarios, y se benefició directamente a los campesinos (21), pues los mercados provenían de los departamentos de Boyacá, Tolima y Meta.

Para cumplir con la estrategia de los mercados campesinos itinerantes, la gobernación de Boyacá compró 7.000 mercados directamente a los campesinos productores sin que ellos tuvieran que desplazarse, asumiendo así el rol de intermediario, para evitar que el valor de los alimentos se perdiera para ellos en la cadena de venta (22), y contribuyendo a aliviar las dificultades económicas que los campesinos sufrían desde antes de la cuarentena (23).

### **Trapos rojos**

Los trapos rojos que la comunidad colgaba de las puertas y ventanas de las casas durante la pandemia en los barrios periféricos y marginados de Bogotá y varias partes del país, sirvieron para revelar el hambre de los hogares. Ello permitió que las personas se manifestaran y que la ciudadanía fortaleciera indirectamente una posición política frente a la carencia de alimentos y bienes básicos (24). Además, condujo a un ejercicio de solidaridad entre vecinos que fortalece el tejido social. En Paipa (Boyacá), en el 2020 se utilizaron los trapos rojos para visibilizar el hambre y los trapos verdes para identificar a quienes podían y deseaban donar alimentos. Fue un gran número de hogares los que estuvieron dispuestos a brindar alimentos a los vecinos que lo requerían (25).

Los trapos rojos han aparecido en varios de los municipios que el DANE clasifica como los de mayor inseguridad alimentaria, específicamente en ciudades costeras como Sincelejo, Santa Marta, Cartagena, Montería y Barranquilla, además de Bogotá. En estos sitios, más del 90 % de la población consumía tres comidas diarias antes de la pandemia y hoy ese porcentaje ha disminuido entre 20 y 50 puntos (4), lo que estaría relacionado con el aumento del desempleo y la disminución de ingresos en los hogares y, por ende, de su capacidad para la compra de alimentos.

### **Posición de la academia**

La academia ha propuesto mecanismos para garantizar la seguridad alimentaria durante la pandemia. Por ejemplo, el Observatorio Rural de la Universidad de La Salle sostiene que es necesario reconocer al campesinado como sujeto político y social, propiciando su capacidad y su identidad cultural asociada con la producción de alimentos, y reconociendo su papel para garantizar la alimentación en el país (26). Es necesario empezar a implementar estrategias de agricultura urbana, ya que, además de la producción de alimentos, se fortalece el tejido social con la integración de personas sin conocimientos previos o con conocimientos en otros campos (27).

## Conclusiones

Las estrategias generadas espontáneamente o por influencia institucional para incentivar formas alternativas de obtención de alimentos y fortalecer los circuitos de comercialización que vinculan el campesinado, sin duda, han sido herramientas indispensables para limitar el aumento de la inseguridad alimentaria en el país a causa de la COVID-19. De cara a futuras pandemias, estas herramientas servirían para fortalecer el aparato institucional y político alrededor del derecho a la alimentación en Colombia.

Cabe resaltar que el trueque es una práctica aborígen que aún se preserva en comunidades indígenas como los kokonucos en el Cauca, quienes consideran que el trueque constituye una forma de hacer frente a los tratados de libre comercio, y fortalecer la soberanía y autonomía alimentaria (15). En este sentido, en las comunidades campesinas de Floridablanca, Lebrija, Piedecuesta, Girón, Bucaramanga, Tona, Charta y Suratá en Santander, se construyó una escuela agroecológica cuyo objetivo es la organización campesina para aprender del otro, reflexionar sobre los recursos de la zona y realizar trueques en los mercados campesinos (28).

El fortalecimiento del campesinado, surgido como una apuesta de los gobiernos locales y las organizaciones sociales de base, ha dado frutos en la cohesión del tejido social de los territorios. Así lo demuestra el impulso de la competitividad de los campesinos a partir de prácticas sostenibles y agroecológicas, cada vez más en auge entre los productores del campo. Esto, además, potencia sus conocimientos tradicionales y ayuda a la preservación de la naturaleza (29).

Todos los colombianos habrían podido alimentarse durante la cuarentena gracias al trabajo de los campesinos del país, pero, a pesar de que ellos han sido un bastión para garantizar la seguridad alimentaria del país, la pandemia ha implicado enfrentarse a retos de transporte, adquisición de insumos, mano de obra, variabilidad e incertidumbre en los precios, falta de créditos, sobreproducción y disminución de la demanda de algunos alimentos. Según la Universidad El Bosque, el 87 % de los habitantes del campo dedicados a actividades agro-pastoriles ha enfrentado dificultades económicas a consecuencia de la pandemia (30). Por ello, las estrategias que buscan su beneficio en un país con vocación agrícola siempre contribuirán al bienestar y calidad de vida de toda la población. Se ha planteado que la afectación del sector agrícola en términos productivos y económicos hubiera sido nula durante la cuarentena (31) de no haber sido porque la importación de alimentos no cesó (32).

La pandemia del coronavirus ha dejado una lección importante en torno a las estrategias que contribuyen a la seguridad y soberanía alimentaria. En este sentido, el trueque y el fortalecimiento de los sistemas alimentarios locales mediante el impulso a los mercados campesinos, se convierten en mecanismos potencialmente exitosos centrados en la alimentación desde y para los pueblos.

## Referencias

1. Ministerio de Salud y Protección Social. Colombia entra en una nueva fase de aislamiento. 2020. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2020. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Colombia-entra-en-una-nueva-fase-deaislamiento.aspx>
2. Gobierno Nacional de Colombia. Acciones tomadas por el Gobierno. Aislamiento preventivo. 2021. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2020. Disponible en: <https://coronaviruscolombia.gov.co/Covid19/acciones/acciones-de-aislamiento-preventivo.html>

3. Ministerio de Salud y Protección Social, Universidad Nacional de Colombia, Instituto Nacional de Salud, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Encuesta de la Situación Nutricional ENSIN 2015 Bogotá, D.C.: ICBF; 2015.
4. Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Encuesta Pulso Social. 2021. Fecha de consulta: 1 de mayo de 2021. Disponible en: <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/encuesta-pulso-social>.
5. Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Boletín Técnico Gran Encuesta Integrada de Hogares. Diciembre 2020-febrero 2021. Fecha de consulta: 1 de mayo de 2021. Disponible en: [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/ech/ech\\_informalidad/bol\\_geih\\_informalidad\\_dic20\\_feb21.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/ech/ech_informalidad/bol_geih_informalidad_dic20_feb21.pdf)
6. Secretaría de Integración Social. Paquete alimentario de contingencia: para 26 días con aporte de 1.080 calorías diarias. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.integracionsocial.gov.co/index.php/noticias/99-noticias-seguridad-alimentaria/3831-paquete-alimentario-de-contingencia-para-26-dias-con-aporte-de-1-080-calorias-diarias>
7. Hora 13 Noticias. Entregan paquetes alimentarios a beneficiarios de Buen Comienzo. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://h13n.com/entregan-paquetes-alimentarios-a-beneficiarios-de-buen-comienzo/>
8. Fundación Éxito. Ante COVID-19 Fundación Éxito entrega más de 48.000 paquetes de alimentos para primera infancia vulnerable. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://blog.fundacionexito.org/noticias/ante-covid-19-fundacion-exito-entrega-mas-de-48-000-paquetes-de-alimentos-para-primera-infancia-vulnerable>
9. Alcaldía Mayor de Bogotá. Secretaría de Integración Social. Informe de gestión. Rendición pública de cuentas de niños, niñas, adolescentes y jóvenes Plan Distrital de Desarrollo 2016-2020 "Bogotá Mejor para Todos" Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2021. Disponible en: [http://old.integracionsocial.gov.co/anexos/documentos/2019documentos/30072019\\_Informe\\_gestion\\_RPC\\_Infancia\\_Juventud\\_2019.pdf](http://old.integracionsocial.gov.co/anexos/documentos/2019documentos/30072019_Informe_gestion_RPC_Infancia_Juventud_2019.pdf)
10. Departamento Nacional de Planeación. CONPES Social 113. Política de seguridad alimentaria y nutricional. Fecha de consulta: 1 de mayo de 2021. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/POL%C3%8DTICA%20NACIONAL%20DE%20SEGU>
11. Nyéléni Forum. Declaración de Nyéléni. Nyéléni, Selingue, Malí. 27 de febrero de 2007. Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://nyeleni.org/spip.php?article291>
12. Mercados campesinos. ¿Qué son los mercados campesinos? Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.mercadoscampesinos.gov.co/quienes-somos/>
13. Del Castillo SE. Aprendizajes en tiempos de la COVID-19. Bogotá, D. C.: Alianza Universitaria por el Derecho Humano a la Alimentación Adecuada (Aludhaa); 2020. Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2021. Disponible en: [https://www.udea.edu.co/wps/wcm/connect/udea/9a3961ef-16bb-4c96-b09b-2f7e8e93f71a/Aprendizajes+en+tiempos+de+la+COVID+19\\_Final\\_Vr300720.pdf?MOD=AJPERES&CVID=neBUfD7](https://www.udea.edu.co/wps/wcm/connect/udea/9a3961ef-16bb-4c96-b09b-2f7e8e93f71a/Aprendizajes+en+tiempos+de+la+COVID+19_Final_Vr300720.pdf?MOD=AJPERES&CVID=neBUfD7)
14. Alcaldía de Bogotá. 10 mil familias reciben desayunos gracias a alianza entre Distrito y Nestlé. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://bogota.gov.co/mi-ciudad/10-mil-familias-vulnerables-recipientes-desayunos-en-cuarentena>
15. Tocancipá J. El trueque: tradición, resistencia y fortalecimiento de la economía indígena en el Cauca. Revista de Estudios Sociales. 2008;31:146-61.
16. Revista Semana. El regreso del trueque a la tierra de los muiscas. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://semanarural.com/web/articulo/eltrueque-en-los-municipios-de-cundinamarca-para-enfrentar-la-pandemia/1411>
17. El Colombiano. Trueque de confianza, un mercado en Frontino para ayudar en tiempos de cuarentena. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.elcolombiano.com/coronavirus-buenas-noticias-en-colombia-y-antioquia/donaciones-de-comida-en-medio-de-cuarentena-por-covid-19-en-frontino-antioquia-BF12716667>
18. Consejo Regional Indígena del Cauca. Pronunciamiento del CRIC frente a la situación del COVID-19. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.cric-colombia.org/portal/pronunciamiento-del-consejo-regionalindigena-del-cauca-cric-frente-a-la-situacion-del-covid-19/>

19. Revista Semana. Indígenas kankuamos recurren al trueque para sobrevivir en cuarentena. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.semana.com/actualidad/articulo/indigenas-kankuamos-recurren-al-trueque-para-sobrevivir-a-cuarentena-en-colombia/49961/>
20. Alcaldía Mayor de Bogotá. Mercados campesinos de la Alcaldía Mayor de Bogotá ahora a domicilio. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://bogota.gov.co/mi-ciudad/desarrollo-economico/cuarentena/mercados-campesinos-de-la-alcaldia-mayor-de-bogota-ahora-domicilio>
21. Revistas Semana. ¡No se quede sin mercado!, compre directamente a los campesinos. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.semana.com/nacion/articulo/mercados-campesinos-en-bogota-domicilios-en-cuarentena/689122/>
22. Caracol Radio. 'Mercatón campesino' desde Boyacá a las casas de quienes viven en Bogotá. Fecha de consulta: 11 de julio de 2021. Disponible en: [https://caracol.com.co/emisora/2020/07/11/tunja/1594475430\\_734293.amp.htm](https://caracol.com.co/emisora/2020/07/11/tunja/1594475430_734293.amp.htm)
23. Mercados Campesinos. Acerca de mercados campesinos. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.mercadoscampesinos.gov.co/pages/acerca-de>
24. El Tiempo. La historia de los trapos rojos, un llamado para dar la mano. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.eltiempo.com/bogota/la-historia-de-los-trapos-rojos-un-llamado-para-dar-la-mano-486038>
25. RCN. Banderas verdes: el símbolo de esperanza que nace en Paipa, Boyacá. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://noticias.canalrcn.com/nacional/banderas-verdes-el-simbolo-de-esperanza-que-nace-en-paipa-boyaca-356405>
26. Observatorio Rural-Universidad de La Salle. Visibilidad para nuestros agricultores familiares, campesinos y comunitarios. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://observatorioruralunisalle.com/publicaciones/editoriales/item/76-visibilidad-para-nuestros-agricultores-familiares-campesinos-y-comunitarios>
27. Unimedios. Espacios satélites fortalecen técnicas de Agricultura Urbana. Fecha de consulta: 11 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/articulo/espacios-satelitesfortalecen-tecnicas-de-agricultura-urbana.html>
28. Rankin A, Roa C. El trueque en un mercado campesino. Rev Bras Agroecol. 2017;21:14-5.
29. Gobernación de Boyacá. La iniciativa de Ciencia, Tecnología e Innovación que hace más competitivo al campo boyacense. Fecha de consulta: 16 de septiembre de 2020. Disponible en: <https://www.boyaca.gov.co/la-iniciativa-de-ciencia-tecnologia-e-innovacion-que-hace-mas-competitivo-al-campoboyacense/?fbclid=IwAR2fIQB5RWTwVizcLiyw9tasH3YvtWWQ9dGB5LLpYUjSfFqluUwbyP8Dw>
30. Universidad del Bosque. Campesinos colombianos afectados por el COVID-19. Fecha de consulta: 1 de mayo de 2021. Disponible en: <https://www.unbosque.edu.co/centro-informacion/noticias/campesinos-colombianos-afectados-por-el-covid-19>
31. Economía. Universidad Externado de Colombia. La cuarentena y las distintas actividades económicas. Fecha de consulta: 16 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.uexternado.edu.co/economia/la-cuarentena-y-las-distintas-actividades-economicas/>
32. Presidencia de la República. Gobierno Nacional garantizará abastecimiento, logística y seguridad alimentaria en el país durante cuarentena preventiva. Fecha de consulta: 16 de septiembre de 2020. Disponible en: <https://id.presidencia.gov.co/Paginas/prensa/2020/Gobierno-Nacional-garantizara-abastecimiento-logistica-seguridad-alimentaria-pais-durante-cuarentena-preventiva-MinA-200321.aspx>

Original article

## Added value of coronal-T1W sequence to the lumbar MR imaging protocol for low back pain

Ahmet Nedim Kahraman, Ahmet Vural

Department of Radiology, University of Health Science Fatih Sultan Mehmet Training and Research Hospital, Istanbul, Turkey

**Introduction:** Magnetic resonance imaging (MRI) is the most appropriate imaging method to investigate low back pain. As low back pain is very common, a large number of MRI scans are performed.

**Objective:** To evaluate the extraspinal findings and clinical effect of the T1-weighted spin echo (T1W SE) coronal sequence added to the lumbar MRI protocol for low back pain.

**Materials and methods:** In 2015, we added a T1-weighted (T1W) coronal sequence to our routine lumbar MRI protocol. We retrospectively evaluated 969 lumbar MRI images for low back pain performed with this protocol. The extraspinal MRI findings obtained from them were then grouped as associated with low back pain (Category 1) and not associated with low back pain (Category 2). We also evaluated whether the recorded incidental extraspinal findings could be detected on conventional sagittal and axial images.

**Results:** Ninety-six (63%) of the extraspinal findings were associated with low back pain (Category 1) and 56 (37%), Category 2. Seventy-eight percent of the extraspinal findings were detected only on coronal-T1W images and not on conventional images.

**Conclusion:** Adding coronal-T1W sequence to the routine protocol of lumbar MRI can help to identify extraspinal findings and guide clinical treatment.

**Keywords:** low back pain; magnetic resonance imaging.

### Valor de la secuencia coronal-T1W agregada al protocolo de imágenes de resonancia magnética en casos de dolor lumbar

**Introducción.** La resonancia magnética (RM) es el método de imágenes diagnósticas más apropiado para investigar el dolor lumbar. Dado que este es muy común, son muchas las resonancias magnéticas de este tipo que se hacen.

**Objetivo.** Analizar los hallazgos extraespinales que se pueden detectar al agregar la secuencia coronal T1W al protocolo de imágenes de RM para el dolor lumbar y evaluar su efecto clínico.

**Materiales y métodos.** En el 2015 se agregó una secuencia coronal ponderada en T1W al protocolo de resonancia magnética lumbar de rutina de nuestro hospital. Se evaluaron retrospectivamente 969 imágenes solicitadas en casos de dolor lumbar y realizadas con este protocolo. Los hallazgos obtenidos a partir de dichas imágenes se agruparon luego como asociados con el dolor lumbar (categoría 1) y no asociados con el dolor lumbar (categoría 2). Se evaluó, asimismo, si los hallazgos extraespinales registrados podían detectarse en imágenes axiales y sagitales convencionales.

**Resultados.** Noventa y seis (63 %) de los hallazgos extraespinales se asociaron con lumbalgia (categoría 1) y 56 (37 %) correspondieron a la categoría 2. El 78 % de los hallazgos extraespinales se detectaron solo en imágenes coronales-T1W y no en las convencionales.

**Conclusión.** La secuencia coronal-T1W agregada al protocolo de rutina de la resonancia magnética lumbar puede ayudar a detectar afectaciones extraespinales y guiar el tratamiento clínico.

**Palabras clave:** dolor de la región lumbar; imagen por resonancia magnética.

Low back pain is described as the pain or muscle stiffness (sometimes accompanied by leg pain), which occurs in the area up to the gluteal region under the costal border due to the compression of the nerve roots coming out of the spinal cord or as a result of the strain of the muscles or ligaments in the spine (1,2). It is a condition experienced at least once in a lifetime by 84% of adults and more than once in a lifetime by 50% of individuals. Low back pain is the second most common cause of job loss among employees (3). It is classified as acute (less than 6 weeks), subacute (6 weeks to 3 months), or chronic (longer than 3 months) (4) and it is mainly originated in the spine, the sacroiliac joint, the hips, muscles, ligaments, and nerves (3,5).

**Received:** 02/10/2020

**Accepted:** 18/08/2021

**Published:** 02/09/2021

**Citation:**

Kahraman AN, Vural A. Added value of coronal-T1W sequence to the lumbar MR imaging protocol for low back pain. *Biomédica*. 2022;42:33-40.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.5845>

**Corresponding author:**

Ahmet Vural, Fatih Sultan Mehmet Training and Research Hospital, E-5 Karayolu Uzeri, 34752 Atasehir, Istanbul, Turkey  
Telephone: (+90) (532) 727 7461; Fax: (+90) (216) 575 0406  
vuralahmet@gmail.com

**Author contributions:**

All the authors have equally contributed in every stage to the preparation of this manuscript.

**Funding:**

None.

**Conflicts of interest:**

There are no conflicts of interest to disclose.

After clinical evaluation, patients with low back pain are often referred to MRI for evaluating intervertebral disc pathologies or degenerative diseases of the spine, as it is the most appropriate imaging method to investigate low back pain (6,7). According to the American College of Radiology, sequences commonly used in spine MRI are 2D T1-weighted (T1W) sagittal imaging, 2D T2-weighted (T2W), or T2\* sagittal imaging, 2D T1W axial imaging, 2D T2W, or T2\* axial imaging (8). Besides, the Short Tau Inversion Recovery (STIR) sequence can be performed for an increased view of bone and ligament lesions. Optionally, non-routine MRI sequences including diffusion-weighted imaging, MRI spectroscopy, in-phase and extra-phase MRI, and dynamic contrast-enhanced MRI (perfusion imaging) may be obtained (8-10).

Up to 2015, T1W and T2W sagittal images and T2W axial images were taken as the standard lumbar MRI protocol at our institution for examining patients with acute or chronic low back pain. In 2015, we added a rapid one-minute T1W coronal sequence that encompassed the entire abdomen with anterior and posterior fields of view to our routine lumbar MRI protocol (table 1) aimed at detecting associated extraspinal pathologies with or without low back pain. Here we performed a retrospective analysis of these images to check the value of incorporating an additional sequence into the routine protocol.

## Materials and methods

This was a retrospective analysis exempt from Institutional Review Board (IRB) evaluation. It was approved by the institutional research ethics committee for human clinical investigations (permit no: 17073117-050.06) in accordance with the Declaration of Helsinki.

In our cohort study, we evaluated 1,384 lumbar MRI examinations performed between January, 2016, and January, 2018, at our institution. We only included patients referred for lumbar MRI due to low back pain. We excluded patients who had lumbar MRI for reasons other than low back pain, those examined during postoperative follow-up, and those with congenital diseases. We also excluded studies with motion artifacts and patients whose examination could not be completed due to claustrophobia. Finally, we included 969 patients out of 1,384 in the study.

### MRI protocol

Lumbar MRIs were performed with a 1.5 T MRI (Signa Explorer; GE Healthcare Medical Systems, USA) using an 8-channel spine-array superficial coil. If no abnormality was detected in sagittal T1W, sagittal T2W, and sagittal planes, the axial T2W sequence for intervertebral disc gaps was obtained traditionally from the L1 to the sacral level. The plane and field of view (FOV) of the coronal-T1W sequence included the entire diaphragm at the top, the pelvic floor at the bottom, and the entire abdomen from the spine to the anterior abdominal wall, and was extended to include coxofemoral joints and sacrum. MRI parameters are summarized in table 1.

**Table 1.** Lumbar MRI sequence parameters

Sequence	TE, ms	TR, ms	Matrix	Voxel size, mm	Thickness, mm	Gap, mm	FOV, mm	Acquisition time, m:s
Sagittal T1W	15	250	320x320	1x1	4	0.5	320x49 FH320	02:04
Sagittal T2W	100	2350	320x320	1x1	4	0.5	320x49 FH320	02:06
Axial T2W	100	6750	288x288	0.7x0.7	4	0.5	200x200 FH320	02:49
Coronal T1W	18	365	288x288	1x1	6	1	530x265 FH320	01:19

Signa Explorer HD 1.5T GE Healthcare

### Image analysis

Two radiologists with an average of 10 years of experience in neuroradiology analyzed both standard and coronal-T1W images. A preliminary evaluation was performed on the basis of T1W and T2W sagittal images, as well as T2W axial images. Imaging findings were then integrated with the coronal-T1W sequence and a final diagnosis was established. The pathological findings were recorded by consensus. During the spine examination, scoliosis, degenerative disc disease, protrusion or herniation, spinal stenosis, spondyloarthritis, facet hypertrophy, vertebral corpus corner degeneration, and vertebral bone lesions were evaluated as spinal pathologies. Extraplural MRI findings including sacroiliac and coxofemoral joint degeneration or sacroiliitis, vascular, genitourinary, and gynecological diseases, were classified as follows: Imaging findings that could be associated with low back pain (Category 1); pathological imaging findings not associated with low back pain (Category 2).

As for renal cysts, simple cysts in Bosniak I stage were classified as Category 1. In the Bosniak kidney cyst classification, size is not a direct criterion for the distinction between stages I and II, but in the revised version, cysts larger than 3 cm should be followed (11). For this reason, Bosniak II cysts and above, or those larger than 3 cm in size were considered Category 2. Of the findings related to kidney and ureters, 31 (31/42) were considered to be associated with low back pain while 11 with non-large renal angiomyolipoma and simple cysts were evaluated as not related to low back pain. Although uterine fibroids may cause pain, it is appropriate to classify them as Category 2 given the small size of fibroids (less than 5 cm) (12). Biliary dilatation is generally associated with abdominal pain, as it shows obstructive pathologies (13).

We determined whether the recorded pathologies were detected on conventional (sagittal T1W and T2W, and axial T2W) images. We recorded only the pathologies detected in coronal-T1W images.

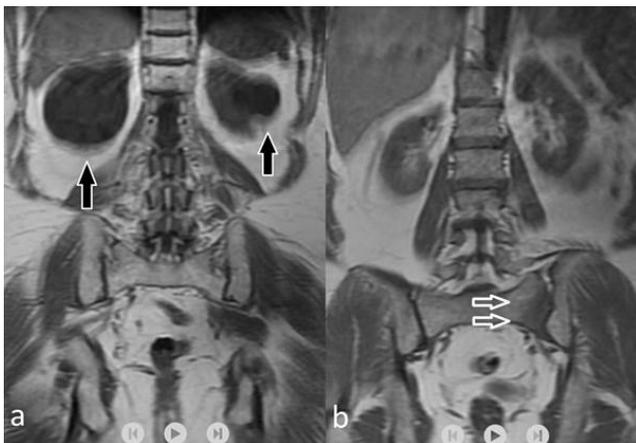
### Results

Sixty-two percent (n=852) of the patients were male and 38% (n=532) were female. The mean age was  $47 \pm 19.61$  (range 19-89). Of the 969 MRI evaluations, 122 (9.9%) showed 152 different extrapural MRI findings; 78% (120/152) of them were detected only in the coronal plane. Extrapural imaging findings are summarized in table 2; 63% of extrapural imaging findings were considered to be associated with low back pain (Category 1), and 37% were unrelated to low back pain (Category 2); 74% of Category 1 findings and 85% of Category 2 were detected only in the coronal plane (table 2).

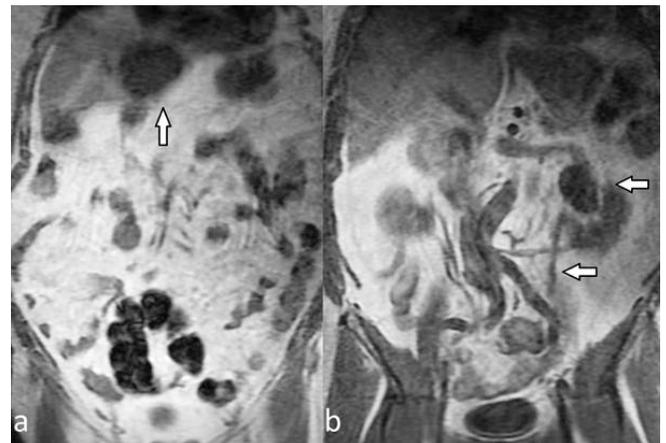
**Table 2.** Classification of extrapural MRI findings

Possible association with low back pain (Category 1)	Unrelated to low back pain (Category 2)
Complex renal cyst (n=16)	Liver hemangioma/cyst (n=18)
Osteoarthritis/degenerative changes (n=16)	Sclerotic nonspecific bone lesion (n=10)
Sacroiliitis (n=15)	Simple renal cyst (n=8)
Renal dilatation (n=15)	Uterine fibroids (n=7)
Bone metastasis (n=9)	Free liquid (n=5)
Ovarian mass/cyst (n=9)	Adrenal mass (n=3)
Sacral insufficiency/fracture (n=5)	Renal angiomyolipoma (n=3)
Dilatation in the biliary tract (n=5)	Muscular atrophy (n=2)
Femoroacetabular impingement (n=3)	
Aortic aneurysm (n=2)	
Retroperitoneal fibrosis (n=1)	

All extraspinal abnormalities detected in conventional sagittal T1W and T2W images appeared in coronal-T1W images. Most extraspinal MRI findings (27.6%) were related to the kidney or the ureters (42/152); of these, 22 were detectable in the sagittal/axial planes while 20 were detectable only in coronal-T1W images. Of the pathologies related to the kidney and the ureters, 31 belonged to Category 1 and 11 to Category 2. After the kidney-related pathologies, the most common extraspinal MRI findings in the coronal-T1W sequence were those associated with the pelvic bones including the coxofemoral joints. Osteoarthritis/degenerative changes (n=16), nonspecific bone lesions (n=10), and bone metastases (n=9) were the most common extraspinal MRI findings while 23 were associated with the liver and 20 with the sacroiliac joints. Lesions that may be compatible with cyst or hemangioma in the liver (n=18) and sacroiliitis-related findings (n=15) related to sacroiliac joints were among the common findings (figures 1, 2). Also, ovarian cysts/masses (n=9), uterine fibroids (n=7), and surrenal masses (n=3) were some of the extraspinal MRI findings. Besides, less common MRI findings such as aortic aneurysm (n=2) and retroperitoneal fibrosis (n=1) were also recorded. The classification of extraspinal MRI findings is shown in tables 2 and 3. The grouping and number of patients in each group is also summarized in the cohort diagram (table 3 and figure 3).



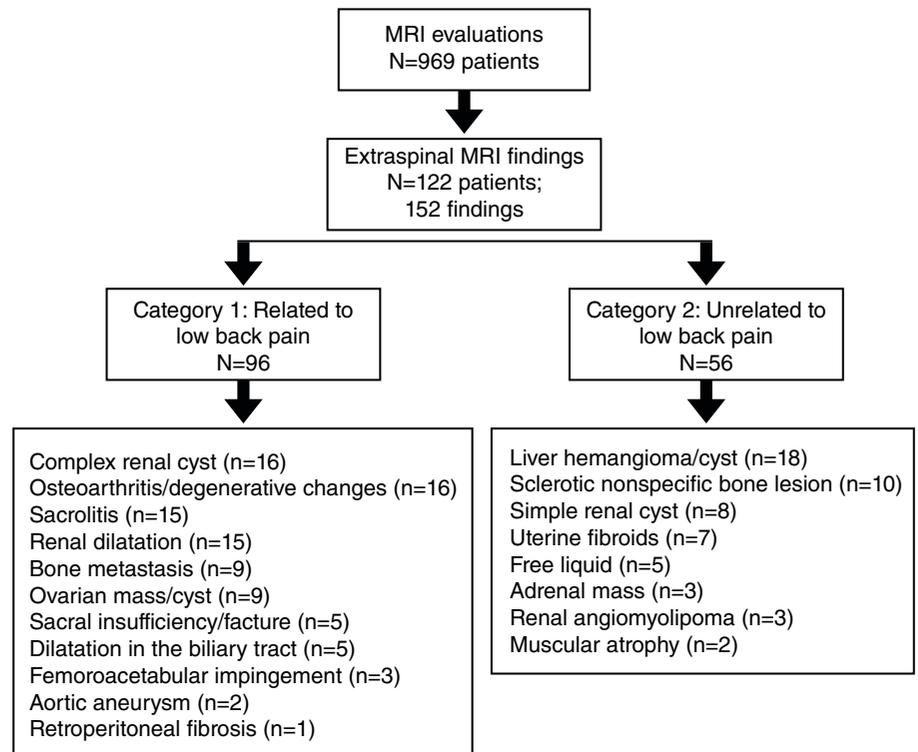
**Figure 1.** Coronal T1-weighted images show hypointense cysts (arrows) located in both kidneys (a). On the coronal-T1 weighted sequence (b), a unilateral sacral hypointensity at the level of sacroiliac joints was detected (arrow); this finding is consistent with unilateral sacroiliitis and it was not detectable on conventional MR sequences.



**Figure 2.** A hypointense mass (arrow) is observed in the liver (a). Coronal T1-weighted images show pelvic dilatation of the left kidney (arrows). There is also dilatation of the left ureter (b).

**Table 3.** Extraspinal MRI findings by region

Pathology region	Number of patients	Seen in axial/sagittal plan	Only seen in coronal-T1W	Category 1	Category 2
Kidney and ureter	42	22	20	31	11
Pelvic bones	38	4	34	28	10
Liver	23	0	23	0	23
Sacroiliac joint	20	3	17	20	0
Internal genitals	16	0	16	9	7
Adrenal	3	0	3	0	3
Aorta	2	1	1	2	0
Other	8	2	6	6	2
<b>Total</b>	<b>152</b>	<b>32</b>	<b>120</b>	<b>96</b>	<b>56</b>



**Figure 3.** Extraspinal MRI findings summarized in the cohort diagram

Of the 42 extraspinal findings in kidneys and ureters, 22 appeared in the axial and sagittal planes, 20 only in the coronal T1W sequence while 39 of 42 pathologies could be seen in the coronal T1W sequence. The coronal T1W sequence was more successful ( $p=0.01$ , i.e., statistically significantly) according to the evaluation with the McNemar test for the detection of kidney and ureter extraspinal findings. There were 38 subjects with extraspinal findings in the pelvic bones. In 34 subjects, the findings were visible only on coronal T1W images while only four subjects had pelvic bone pathology in axial and sagittal conventional images, and 37/38 (97%) of the pelvic bone pathologies could be detected in coronal T1W images. Coronal T1W sequence was found to be more successful in detecting pelvic bone pathologies ( $p=0.01$ , i.e., statistically significantly). Similarly, coronal T1W images were found to be more successful in the detection of extraspinal findings in the liver, sacroiliac joints, and internal genital organs ( $p<0.05$ , i.e., statistically significant).

## Discussion

Based on our results, the use of the coronal-T1W sequence allowed for the detection of MRI findings not visible in the sagittal or axial planes in 4.5% of patients (44/969) significantly altering their diagnostic workflow and prognosis. Additionally to conventional lumbar MRI performed for low back pain, it was possible to get coronal-T1W images including the site from the spine to the abdominal anterior wall level, as well as findings in the musculoskeletal system and the abdominopelvic region. Thus, the major extraspinal causes of low back pain can be identified as problems affecting the sacroiliac joints, coxofemoral joints, or pelvic bones. Most of these problems cannot be detected using the conventional lumbar MRI examination protocol. In many clinics, a coronal STIR sequence has been added to the lumbar MRI protocol

to detect sacroiliitis, which is one of the major causes of low back pain (14). The use of a coronal-T1W sequence instead of a coronal STIR sequence appears to be highly successful in the diagnosis of sacroiliitis. Instead of using a coronal STIR sequence for imaging only the spine and sacroiliac joints, many pathologies associated with low back pain and sacroiliitis can be visualized using a coronal-T1W sequence involving the entire abdomen. Also, many pathologies not associated with low back pain can significantly alter the diagnostic process and prognosis of the patient.

Of the 152 extraspinal MRI findings detected in our study, 33 (22%) were detectable on conventional images, while 129 (78%) were visible only on coronal-T1W images, and 42 of the pathological extraspinal imaging findings were related to the kidneys and ureters. It is possible to detect many renal imaging findings in the axial plane, but the coronal plane allows for easier detection and characterization. The collector system enlargement from renal pathologies, complex cysts (Bosniak II and above), and cysts larger than 3 cm were accepted as associated with low back pain (15). After renal diseases, liver lesions, unilateral or bilateral sacroiliitis, coxofemoral disease, and iliac bone lesions were the most common pathological extraspinal MRI findings in our study. Findings compatible with metastasis from bone-derived pathologies, sacroiliitis, coxofemoral pathologies, and biliary dilatation were classified as possible pathologies associated with low back pain.

Gleeson *et al.* concluded that in a study evaluating sacroiliac joints and sacrum with coronal-STIR sequence added to lumbar MRI for low back pain, in a few cases (2%) diagnostic evaluation improved (16). More recently, Gupta *et al.* investigated the value of adding the coronal-STIR sequence to lumbar MR imaging in a smaller patient population. They evaluated extraspinal findings (inflammatory sacroiliitis, sacroiliac joint degeneration, sacral stress fracture, muscle injury) retrospectively. They reported that coronal-STIR imaging may provide an additional diagnosis in 6.8% of patients and should be included in the routine lumbar spine MRI protocol (17). Similarly, other studies evaluating the diagnostic efficacy of the coronal-STIR sequence added to the conventional lumbar MR imaging have reported extraspinal incidental findings including vascular, genitourinary, gastrointestinal, musculoskeletal, and oncological pathologies (18-23). In these studies, the coronal-STIR sequence was performed for the backbone region. In our study, we added coronal-T1W imaging and performed a sequence planning that would cover not only the spinal region but also the entire abdominal region up to the anterior abdominal wall. Adding the coronal-STIR sequence to lumbar MRI in patients with low back pain is becoming more common. The most important reason for this is that sacroiliitis, which is the most common cause of unresolved low back pain, can be revealed. In our study, we found that coronal-T1W imaging could successfully detect sacroiliitis, as well as more extraspinal findings associated with low back pain or not. We also wanted to demonstrate the advantage of T1W imaging for better anatomy screening. The results are more prominent than in general screening, especially in sclerotic bone lesions (24). In sequence planning, we have tried to optimize a sequence that lasts shorter than the coronal-STIR sequence for the spine alone but allows us to evaluate the whole abdomen in the foreground. One of the disadvantages of the coronal-STIR sequence is its inability to evaluate frequently observed signal changes in the vertebra corpus corners. T1W images provide more valuable information in the evaluation of trauma, degeneration, fatty bone marrow, and sclerotic signal changes. Similarly, T1W images are more beneficial than the STIR sequence in sacroiliitis with the dominant sclerotic component (25,26).

We observed that some of the extraspinal MRI findings had significantly led to an earlier diagnosis algorithm, which is important for the prognosis and treatment plan. On the other hand, the majority of the findings were benign pathologies and did not affect the prognosis. In this sense, over-diagnosis may cause unnecessary anxiety and lead to additional exams. The most important limiting factor in our study was the quality of abdominal images obtained with surface coils optimized for lumbar MR imaging. However, our aim was not the detection of all abdominal pathologies with high sensitivity. On the other hand, we wanted to detect as many gross extraspinal lesions as possible by adding a minute-long T1W sequence to the spinal imaging. Also, we could have overlooked small lesions due to the high cross-sectional thickness and spacing used to optimize the sequence time and the lack of direct comparison with the coronal-STIR sequence. We believe that a study of both the coronal-STIR sequence and coronal-T1W images would provide valuable information.

In conclusion, we believe that adding coronal-T1W images to the routine lumbar MRI for patients presenting with low back pain may help detect extraspinal MRI findings associated with low back pain and reveal additional findings that improve the prognosis of the patient without adding cost. Since the same coil is used and the procedure takes only an additional minute, it provides benefits by detecting incidental lesions in the abdomen with no extra burden for the patients.

### Acknowledgments

The authors are thankful to Cristóbal Cintrón for his help with the Spanish translation of the abstract.

### References

1. Wu A, March L, Zheng X, Huang J, Wang X, Zhao J, *et al.* Global low back pain prevalence and years lived with disability from 1990 to 2017: Estimates from the Global Burden of Disease Study 2017. *Ann Transl Med.* 2020;8:299. <https://doi.org/10.21037/atm.2020.02.175>
2. Neelapala YV, Bhagat M, Frey-Law L. Conditioned pain modulation in chronic low back pain: A systematic review of literature. *Clin J Pain.* 2020;36:135-41. <https://doi.org/10.1097/AJP.0000000000000778>
3. Kreiner DS, Matz P, Bono CM, Cho CH, Easa JE, Ghiselli G, *et al.* Guideline summary review: An evidence-based clinical guideline for the diagnosis and treatment of low back pain. *Spine J.* 2020;20:998-1024. <https://doi.org/10.1016/j.spinee.2020.04.006>
4. Bosmans F, van Goethem J, Vanhoenacker FM. Imaging of degeneration, inflammation, infection, ossification, and calcification of the intervertebral disk. In: Manfrè L, van Goethem J (editors). *The Disc and Degenerative Disc Disease. New Procedures in Spinal Interventional Neuroradiology.* Cham: Springer; 2020. p. 19-62. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-03715-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-03715-4_2)
5. Laplante BL, Ketchum JM, Saullo TR, DePalma MJ. Multivariable analysis of the relationship between pain referral patterns and the source of chronic low back pain. *Pain Physician.* 2012;15:171-8
6. Roudsari B, Jarvik JG. Lumbar spine MRI for low back pain: Indications and yield. *AJR Am J Roentgenol.* 2010;195:550-9. <https://doi.org/10.2214/ajr.10.4367>
7. Chou R, Qaseem A, Snow V, Casey D, Cross JT Jr, Shekelle P, *et al.* Diagnosis and treatment of low back pain: A joint clinical practice guideline from the American College of Physicians and the American Pain Society. *Ann Intern Med.* 2007;147:478-91. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-147-7-200710020-00006>
8. Douglas NM, Kristine B, Douglas PB, Kavita E, David BH, Stephen A, *et al.* American College of Radiology. American Society of Neuroradiology (ASNR), Society of Computed Body Tomography and Magnetic Resonance (SCBT-MR). ACR-ASNR-SCBT-MR-SSRPRACTICE Parameter for the performance of magnetic resonance imaging (MRI) of the adult spine. Resolution 18. Citation date: October 11 2020. Available from: <https://www.acr.org/-/media/ACR/Files/Practice-Parameters/MR-Adult-Spine.pdf>

9. Razek AAA, Ashmalla G. Assessment of paraspinal neurogenic tumors with diffusion-weighted MR imaging. *Eur Spine J*. 2017;27:841-6. <https://doi.org/10.1007/s00586-017-5265-6>
10. Caranci F, Tedeschi E, Ugga L, D'Amico A, Schipani S, Bartollino S, *et al*. Magnetic resonance imaging correlates of benign and malignant alterations of the spinal bone marrow. *Acta Biomed*. 2018;89:18-33. <https://doi.org/10.23750/abm.v89i1-s.7008>
11. Israel GM, Bosniak MA. An update of the Bosniak renal cyst classification system. *Urology*. 2005;66:484-8. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2005.04.003>
12. Lippman SA, Warner M, Samuels S, Olive D, Vercellini P, Eskenazi B. Uterine fibroids and gynecologic pain symptoms in a population-based study. *Fertil Steril*. 2003;80:1488-94. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(03\)02207-6](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(03)02207-6)
13. Sharara AI, Mansour NM, El-Hakam M, Ghaith O, El Halabi M. Duration of pain is correlated with elevation in liver function tests in patients with symptomatic choledocholithiasis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010;8:1077-82. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2010.08.021>
14. Owlia MB, Danesh-Ardakani M. Frequency of sacroiliitis among patients with low-back pain. *Electron Physician*. 2016;8:2094-100. <https://doi.org/10.19082/2094>
15. Simms RJ, Ong ACM. How simple are 'simple renal cysts'? *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29:106-12. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfu106>
16. Gleeson TG, O'Connell MJ, Duke D, Ryan M, Ennis R, Eustace SJ. Coronal oblique turbo STIR imaging of the sacrum and sacroiliac joints at routine MR imaging of the lumbar spine. *Emerg Radiol*. 2005;12:38-43. <https://doi.org/10.1007/s10140-005-0440-1>
17. Gupta R, Mittal P, Mittal A, Mittal K, Gupta S, Kaur R. Additional merit of coronal STIR imaging for MR imaging of lumbar spine. *J Craniovertebr Junction Spine*. 2015;6:12-5. <https://doi.org/10.4103/0974-8237.151582>
18. Quattrocchi CC, Giona A, Di Martino AC, Errante Y, Scarciolla L, Mallio CA, *et al*. Extraspinal incidental findings at lumbar spine MRI in the general population: A large cohort study. *Insights Imaging*. 2013;4:301-8. <https://doi.org/10.1007/s13244-013-0234-z>
19. Tuncel SA, Çağlı B, Tekataş A, Kırıcı MY, Ünlü E, Gençhellaç H. Extraspinal incidental findings on routine MRI of lumbar spine: Prevalence and reporting rates in 1278 patients. *Korean J Radiol*. 2015;16:866-73. <https://doi.org/10.3348/kjr.2015.16.4.866>
20. Semaan HB, Bieszczad JE, Obri T, Aldinger PK, Bazerbashi MF, Al-Natour MS, *et al*. Incidental extraspinal findings spine magnetic resonance imaging: A retrospective study. *Spine*. 2015;40:1436-43. <https://doi.org/10.1097/brs.0000000000001024>
21. Park HJ, Jeon YH, Rho MH, Lee EJ, Park NH, Park SI, *et al*. Incidental finding of the lumbar spine at MRI during herniated intervertebral disk disease evaluation. *Am J Roentgenol*. 2011;196:1151-5. <https://doi.org/10.2214/ajr.10.5457>
22. Romeo V, Cavaliere C, Sorrentino C, Ponsiglione A, Ugga L, Barbuto L, *et al*. Clinical impact of coronal-STIR sequence in a routine lumbar spine MR imaging protocol to investigate low back pain. *Medicine*. 2018;97:23. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000010789>
23. Dilli A, Cosar Ayaz FS, Karacan K, Zengin K, Ayaz UY, Karabacak OR, *et al*. Evaluation of renal anomalies, inferior vena cava variations, and left renal vein variations by lumbar magnetic resonance imaging in 3000 patients. *Türk J Med Sci*. 2017;47:1866-73. <https://doi.org/10.3906/sag-1611-23>
24. Mugerá C, Suh KJ, Huisman TAGM, Weber K, Belzberg AJ, Carrino JA, *et al*. Sclerotic lesions of the spine: MRI assessment. *J Magn Reson Imaging*. 2013;38:1310-24. <https://doi.org/10.1002/jmri.24247>
25. Alexandru D, So W. Evaluation and management of vertebral compression fractures. *Perm J*. 2012;16:46-51. <https://doi.org/10.7812/tpj/12-037>
26. Hermann KG, Althoff CE, Schneider U, Zühlsdorf S, Lembcke A, Hamm B, *et al*. Spinal changes in patients with spondyloarthritis: Comparison of MR imaging and radiographic appearances. *Radiographics*. 2005;25:559-69. <https://doi.org/10.1148/rg.253045117>

Artículo original

## Propiedades psicométricas de la versión en español del *Type 2 Diabetes Stigma Assessment Scale (DSAS 2)* en población colombiana

Víctor Pedrero<sup>1,2</sup>, Luz Marina Alonso<sup>3</sup>, Jorge Manzi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Enfermería, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile

<sup>2</sup> Escuela de Psicología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

<sup>3</sup> Departamento de Salud Pública, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

**Introducción.** El estigma se ha asociado negativamente al control metabólico y la calidad de vida de pacientes con diabetes de tipo 2. El cuestionario *Diabetes Stigma Assessment Scale 2 (DSAS 2)* fue diseñado para medir específicamente el estigma asociado en personas con este tipo de diabetes. Sin embargo, las propiedades psicométricas de su versión en español aún no han sido analizadas.

**Objetivo.** Analizar la validez y confiabilidad de la versión en español del DSAS 2 en población colombiana.

**Materiales y métodos.** Se solicitó a 501 pacientes con diabetes de tipo 2 en Barranquilla contestar la versión en español del DSAS 2, un cuestionario con indicadores sociodemográficos y clínicos, así como instrumentos de medición de la depresión, la autoeficacia y el estrés. Se hizo un análisis factorial (exploratorio y confirmatorio) para determinar la estructura interna del DSAS 2 en español y se usó el coeficiente alfa ( $\alpha$ ) para evaluar su confiabilidad. Además, se analizó la relación entre los puntajes del DSAS 2 y las otras variables estudiadas.

**Resultados.** La estructura de tres factores (trato diferente-juicio, culpa y vergüenza) se ajustó adecuadamente a los datos (raíz del error cuadrático medio (RMSEA)=0,081, índice de ajuste comparativo (CIF)=0,959, índice de Tucker-Lewis (TLI)=0,95) y su confiabilidad fue buena ( $\alpha=0,76$ ). Se observaron correlaciones significativas del puntaje del DSAS 2 en español con la autoeficacia ( $r_s=-0,37$ ;  $p<0,001$ ), el estrés ( $r_s=0,24$ ;  $p<0,001$ ) y la presencia de síntomas depresivos ( $r_s=0,1$ ;  $p=0,021$ ). Además, los puntajes de la escala mostraron variaciones asociadas a variables sociodemográficas y clínicas.

**Conclusiones.** La versión en español presenta ciertas diferencias con la versión original del DSAS2, sin embargo, su validez y confiabilidad son suficientes y adecuadas para su uso en Colombia.

**Palabras claves:** diabetes mellitus; estigma social; reproducibilidad de los resultados.

### Psychometric properties of the Spanish version of the Type 2 Diabetes Stigma Assessment Scale (DSAS 2) in a Colombian population

**Introduction:** The perception of stigma has been negatively associated with the metabolic control and quality of life in patients with type 2 diabetes. The Diabetes Stigma Assessment Scale 2 (DSAS 2) was designed to specifically measure the stigma associated with this type of diabetes. However, the psychometric properties of its Spanish version have not yet been addressed.

**Objective:** To analyze the validity and reliability of the Spanish version of DSAS 2 in a Colombian population.

**Materials and methods:** In total, 501 patients with type 2 diabetes from Barranquilla answered the Spanish version of DSAS 2, a questionnaire with sociodemographic and clinical indicators, as well as instruments to measure depression, self-efficacy, and stress. We performed a factor analysis (exploratory and confirmatory) to determine the internal structure of the DSAS 2 in Spanish and used the alpha coefficient ( $\alpha$ ) to evaluate its reliability. Additionally, we analyzed the relationship between the DSAS 2 scores and the other variables under study.

**Results:** The three-factor structure (different treatment / judgment, guilt and shame) showed good fit to the data (RMSEA = 0.081, CFI = 0.959, TLI = 0.95) and good reliability ( $\alpha = 0.76$ ). Significant correlations of the scores of the DSAS 2 Spanish version were observed with self-efficacy ( $r_s=-0.37$ ,  $p<0.001$ ), stress ( $r_s=0.24$ ,  $p<0.001$ ), and depression ( $r_s=0.1$ ,  $p=0.021$ ). Besides, the scores showed variations associated with sociodemographic and clinical variables.

**Conclusions:** The Spanish version showed certain differences compared with the original version of the DSAS2 but there was adequate evidence of its validity and reliability to be used in Colombia.

**Keywords:** Diabetes mellitus; social stigma; reproducibility of results.

**Recibido:** 07/05/2021

**Aceptado:** 25/08/2021

**Publicado:** 01/09/2021

#### Citación:

Pedrero V, Alonso LM, Manzi J. Propiedades psicométricas de la versión en español del *Type 2 Diabetes Stigma Assessment Scale (DSAS 2)* en población colombiana. *Biomédica*. 2022;42:41-54. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6128>

#### Correspondencia:

Víctor Pedrero, Avenida República 217, Santiago, Chile  
Teléfono: +56 22 770 3291  
victor.pedrero@unab.cl

#### Contribución de los autores:

Víctor Pedrero y Jorge Manzi: análisis e interpretación de la información  
Todos los autores participaron en el diseño del proyecto, la recolección de datos y la redacción del manuscrito.

#### Financiación:

Universidad Andrés Bello. Proyecto de investigación (DI-01-19/CB): "Efecto del estigma sobre los comportamientos de automanejo en usuarios con diabetes mellitus 2 en atención primaria: una aproximación por medio de ecuaciones estructurales".

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

La diabetes de tipo 2 es un importante problema de salud pública a nivel mundial. Actualmente, 463 millones de personas alrededor del mundo tienen este tipo de diabetes y, de estos, aproximadamente 28 millones viven en países latinoamericanos donde el español es el primer idioma (1). Específicamente en Colombia, hay cerca de dos millones de personas con esta enfermedad, lo cual equivale a una prevalencia del 8,5 % (2,3). Se espera que en los próximos años estas cifras aumenten debido a factores como el incremento en la esperanza de vida, las tasas de obesidad y el sedentarismo (4).

Las cifras de compensación metabólica en la población de Latinoamérica con diabetes de tipo 2 son preocupantes (4). Se estima que entre el 3,5 y el 54 % de los pacientes de la región llegarían a niveles de hemoglobina glucosilada menores del 7 % y, en Colombia, solo el 13 % lograría los niveles recomendados (2,3).

Hay acuerdo en que los factores psicosociales, por ejemplo, la autoeficacia, son claves para enfrentar exitosamente la diabetes de tipo 2 (5). El estigma hacia la diabetes es un factor psicosocial que recientemente ha despertado interés internacional debido a su efecto negativo en el manejo y el control de la enfermedad (5). Desde un punto de vista conceptual, el estigma es una marca que, dada su connotación social, desacredita a quien la posee (6). En este caso, la marca sería poseer la enfermedad y su connotación social respondería a los estereotipos sobre ella, que, en general, enfatizan tanto la responsabilidad individual de las personas por padecerla, como la incapacidad que produce para enfrentar la vida diaria. Estos estereotipos generan un ambiente que propicia el estigma hacia las personas con diabetes (7,8).

El estigma por padecer diabetes opera en diferentes niveles (9). Dos de los más abordados son el nivel individual y el interpersonal. El estigma individual (“autoestigma”) alude a la devaluación que las personas con la enfermedad hacen de sí mismas debido a los estereotipos que existen sobre su condición. Por otro lado, el estigma interpersonal ocurre cuando las personas con diabetes de tipo 2 perciben como discriminatorio el trato que reciben de otros (familia, amigos, trabajadores de la salud, entre otros).

La percepción del estigma es frecuente en pacientes con diabetes tipo 2 y tiene importantes consecuencias para su salud. En estudios recientes se sugiere que entre el 16 y el 50 % de los pacientes con la enfermedad pueden sentirse estigmatizados (10,11). En este sentido, se ha planteado que la percepción del estigma podría variar según ciertas características de los pacientes como la edad, los años transcurridos desde el diagnóstico o el uso de insulina (12,13). A modo de ejemplo, tener mayor edad se ha asociado con una menor percepción del estigma (13).

La evidencia proveniente de Australia, Estados Unidos y Japón sugiere que la percepción de estigma puede afectar negativamente la compensación metabólica y la calidad de vida de las personas con diabetes (14-16). Se ha propuesto que el estrés, la autoeficacia y el desarrollo de síntomas depresivos pueden ser parte de los mecanismos involucrados en estas asociaciones (9,14-17). Esto significa que parte del efecto del estigma en el control de la diabetes de tipo 2 puede estar mediado por su efecto perjudicial en algunas de tales variables, de ahí la urgencia de avanzar en esta área para contribuir al bienestar de los pacientes.

Actualmente, en Latinoamérica y otras regiones de habla hispana la evidencia sobre este tipo de estigma es prácticamente inexistente. Un factor

que contribuye a este vacío es la falta de instrumentos en español para medir el fenómeno. Hoy existen tres instrumentos para evaluar el estigma hacia la diabetes (9): dos de ellos se enfocan específicamente en el autoestigma, en tanto que el *Diabetes Stigma Assessment Scale 2* (DSAS 2) es el único que considera tanto el nivel individual como interpersonal del estigma. Este instrumento, creado en Australia, está conformado por tres dimensiones o factores: trato diferente, autoestigma, culpa y juicio. El trato diferente hace referencia a aquellas situaciones en que el paciente ha experimentado discriminación debido a su enfermedad; el autoestigma corresponde al grado en que las personas se aplican a sí mismas los estereotipos sobre la enfermedad, y la escala que mide la culpa y el juicio evidencia hasta qué punto las personas se sienten juzgadas (por su familia y los profesionales de salud, entre otros) y culpables de tener la enfermedad (11).

Existe evidencia que respalda la validez y la confiabilidad de la versión en inglés del DSAS 2 (11), sin embargo, las propiedades psicométricas de la versión en español aún no han sido analizadas. Dicha evidencia permitiría explorar el problema del estigma en pacientes hispanoparlantes con diabetes de tipo 2, y contribuiría a implementar y evaluar intervenciones desde su perspectiva. Algunas estrategias en este ámbito podrían orientarse a favorecer los mecanismos de afrontamiento al estigma en los pacientes con este tipo de diabetes, así como a fortalecer ciertas habilidades y conocimientos en los trabajadores de la salud (18).

El objetivo general del estudio es analizar las evidencias sobre la validez y la confiabilidad de la versión en español del DSAS 2 en población colombiana. Particularmente aborda específicamente los siguientes aspectos: (i) la confiabilidad general de la escala, así como la de cada una de sus subescalas; ii) la estructura interna de esta versión del DSAS 2 evaluada mediante un análisis factorial; (iii) la relación entre los puntajes del instrumento, la presencia de síntomas depresivos, nivel de autoeficacia y el estrés, y (iv) la asociación entre los puntajes del DSAS 2 y las características sociodemográficas y clínicas de la población estudiada.

## **Materiales y métodos**

### ***Muestra y procedimiento***

Se seleccionó una muestra por conveniencia de 501 participantes en Barranquilla, Colombia, durante el 2019. Se incluyeron personas con diagnóstico de diabetes de tipo 2 que tuvieran más de 18 años; no se aplicaron criterios de exclusión. Las encuestas las hizo un encuestador previamente familiarizado con el instrumento y con las condiciones de aplicación (privacidad, prestar asistencia en caso de que los participantes tuvieran dificultades para comprender alguna de las preguntas, y ayuda en la lectura, entre otros aspectos). El cuestionario utilizado incluyó tanto la versión en español del DSAS 2 como otros instrumentos para medir aspectos psicosociales y variables sociodemográficas y clínicas. Antes de ingresar en el estudio, cada participante firmó un consentimiento informado previamente aprobado por el comité de ética de la Universidad del Norte en Colombia (acta de evaluación nº 197).

### ***Instrumentos***

Se utilizó una versión en español del DSAS 2 provista por *Mapi Research Trust*, institución internacional especialista en resultados reportados por pacientes (*Patient Reported Outcomes*) y encargada de la distribución de las

versiones del DSAS 2 (acuerdo N° 211063). Dicha versión fue revisada por el equipo de investigación para detectar términos que pudieran ser poco claros o no aplicables a la población de interés, y no se encontraron elementos que debieran modificarse.

El DSAS 2 tiene 19 ítems con una escala de respuesta del tipo Likert de cinco puntos, que van desde “completamente de acuerdo” hasta “completamente en desacuerdo”. Estos ítems se distribuyen en tres subescalas: trato diferente, culpa y juicio, y autoestigma. La escala de trato diferente, cuenta con seis ítems; la subescala de culpa y ser objeto de juicio, tiene siete ítems; y la subescala de autoestigma, incluye seis ítems. El puntaje del DSAS 2 oscila entre 19 y 95 puntos, cuanto mayor sea este, mayor es el nivel de estigma. La confiabilidad de la escala completa en el instrumento original, evaluada mediante el alfa de Cronbach ( $\alpha$ ), es de 0,95; la de trato diferente es de 0,88; la de juicio y culpa, de 0,8, y la de autoestigma, de 0,9 (11).

*Autoeficacia.* Los pacientes contestaron los siete ítems de esta escala desarrollada en español por Lorig, *et al.* (19) la cual ha sido recomendada previamente para su uso en pacientes con diabetes (20). La escala mide la percepción que las personas con diabetes de tipo 2 tienen de su capacidad para lidiar con la enfermedad. Un ejemplo de los ítems presentes en esta escala es: ¿Qué tan seguro(a) se siente usted de poder comer sus alimentos cada 4 o cinco horas todos los días?. La respuesta a cada ítem se puntúa de 1 a 10, siendo los mayores puntajes indicativos de un mayor nivel de autoeficacia. La confiabilidad de esta escala en nuestro estudio fue de  $\alpha=0,81$ .

*Síntomas depresivos.* Para su evaluación se utilizó la versión en español del *Personal Health Questionnaire 2* (PHQ-2) (21), el cual incluye dos ítems (En las dos últimas semanas, ¿qué tan seguido ha tenido molestias debido a los siguientes problemas: poco interés o placer en hacer cosas? y ¿Se ha sentido decaído, deprimido o sin esperanzas?), con cuatro alternativas de respuesta (entre “ningún día” y “casi todos los días”). Se ha comprobado que esta es una herramienta válida y confiable para el tamizaje de la depresión. La confiabilidad del instrumento en la muestra estudiada fue de  $\alpha=0,81$ .

*Estrés psicológico asociado con la diabetes.* Los participantes completaron la versión en español del instrumento *Problem Areas in Diabetes (PAID)-5*, ya empleado en investigaciones anteriores (22-24). Este instrumento mide el grado de estrés psicológico que enfrentan los pacientes con diabetes por padecerla. Un ejemplo de ítem presente en esta escala es: ¿Cuál de los siguientes aspectos son actualmente un problema para usted?. El tener que lidiar con las complicaciones de la enfermedad. Cada uno de los cinco ítems se responde con una escala del tipo Likert de cinco puntos (entre “no es un problema” y “es un problema muy serio”). Los puntajes más altos indican mayor estrés psicológico. La confiabilidad del instrumento en nuestro estudio fue de  $\alpha=0,75$ .

### **Variables sociodemográficas y clínicas**

Las variables sociodemográficas y las clínicas se seleccionaron por haberse asociado con el estigma en estudios previos (13,16,25). Las sociodemográficas incluyeron el sexo del participante, su edad (en los rangos que figuran en el *Medical Subject Headings - MeSH*) (26) y nivel educativo (primaria, secundaria o superior), así como su régimen de afiliación al Sistema General de Seguridad Social, diferenciando entre los afiliados al régimen contributivo y aquellos sin capacidad de pago pertenecientes al subsidiado (27). Entre las variables clínicas, se incluyeron los años transcurridos desde el diagnóstico de diabetes

de tipo 2 (<5 años; 5-15 años, >15 años), el uso de insulina (sí/no) y el reporte de la propia persona de la presencia o ausencia de cualquier complicación asociada con la enfermedad (problemas renales, oculares, heridas o pérdida de extremidades). Además, para una aproximación al cumplimiento del tratamiento, se utilizó el número de controles médicos relacionados con la diabetes a los cuales el paciente reportó haber asistido en el último año (cuadro 1).

### **Análisis de la estructura factorial**

El análisis factorial confirmatorio (AFC) y el exploratorio (AFE) sirvieron para evaluar la estructura factorial de la versión en español del DSAS 2. En ambos casos, y dada la naturaleza ordinal de su escala de respuesta, las estimaciones se hicieron a partir de la matriz de correlaciones de los ítems del cuestionario. Tres índices de bondad de ajuste permitieron evaluar el ajuste global de cada modelo a los datos: la raíz del error cuadrático medio (RMSEA), el índice de ajuste comparativo (CFI) y el índice de Tucker-Lewis (TLI) (28). Se consideró que el modelo se ajustaba bien si el CFI y el TLI eran mayores o iguales a 0,9 y la RMSEA menor o igual a 0,08 (28).

Específicamente en el caso del AFE, se estimó el coeficiente de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) para evaluar la pertinencia de realizar el análisis (los valores de KMO superiores a 0,7 indican que los datos resultan adecuados para el análisis). La solución factorial se rotó de manera oblicua (Geomin), ya que los autores de esta escala señalan que existe correlación entre sus diferentes factores. La decisión sobre el número de factores por extraer se basó en las siguientes consideraciones: i) el criterio de Kaiser (*Eigen value*  $\geq 1$ ); ii) el gráfico de sedimentación; iii) el porcentaje de varianza explicada; iv) el sentido teórico de la solución factorial, y v) las cargas factoriales ( $\geq 0,3$ ). Las estimaciones para ambos análisis (AFC y AFE) se hicieron en el programa Mplus 8.

Para determinar la confiabilidad total y la de cada subescala, se empleó el coeficiente alfa de Cronbach ( $\alpha$ ). Los patrones de respuesta y los puntajes finales se analizaron mediante estadística descriptiva.

**Cuadro 1.** Caracterización de la muestra

		N	%
Sexo	Hombre	184	36,7
	Mujer	317	63,3
Edad	18-44	42	8,4
	45-64	265	52,9
	65-80	168	38,5
	>80	26	19
Educación	Primaria	213	42,5
	Secundaria	193	38,5
	Superior	95	19
Régimen de afiliación al sistema de salud	Contributivo	175	35
	Subsidiado	325	65
Años con diabetes	$\leq 5$	225	44,9
	6-15	192	38,3
	>15	84	16,8
Uso de insulina	No	323	64,5
	Sí	178	35,5
Complicaciones asociadas a la diabetes <sup>§</sup>	No	368	73,9
	Sí	130	26,1
Controles durante el último año (Mdn) <sup>§§</sup>		501	4

<sup>§</sup> Reporte del propio paciente sobre la presencia de alguna de las siguientes complicaciones: problemas renales, oculares, heridas o pérdida de extremidades

<sup>§§</sup> En el caso de esta la variable, se reporta como valor estadístico descriptivo la mediana (Mdn).

### **Relación con otras variables**

Otra evidencia de validez surge del grado en que el DSAS 2 se relaciona con otras variables según lo esperado. En este sentido, se estimó la correlación entre el puntaje obtenido en la versión en español del DSAS 2 (total y para cada una de sus subescalas) y los puntajes de autoeficacia, estrés y presencia de síntomas depresivos. Se esperaba que los puntajes del DSAS 2 se correlacionaran positivamente con el estrés y la presencia de síntomas depresivos, y negativamente, con la autoeficacia. Esto sugiere que, a mayor percepción del estigma, mayor estrés, mayor sintomatología depresiva y menores niveles de autoeficacia, hipótesis que concuerda con lo planteado previamente (14-16). Dada la falta de normalidad de la versión en español del DSAS 2, comprobada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov ( $D=0,065$ ;  $p<0,001$ ), para estos análisis se utilizó la correlación de Spearman ( $r_s$ ). Se aceptó como significativo un valor de  $p<0,05$ .

Por último, se exploró la asociación entre los puntajes del DSAS 2 en español, y las variables sociodemográficas y clínicas, para lo cual se empleó la prueba U de Mann-Whitney cuando se trataba de dos grupos y, la de Kruskal Wallis, cuando eran más de dos grupos (educación y años transcurridos desde el diagnóstico de diabetes de tipo 2). Cuando se trataba de dos grupos (sexo), se aceptó como significativo un valor de  $p<0,05$  y, cuando el número de grupos era mayor, se aplicó el ajuste de Bonferroni para comparaciones múltiples. Como producto de este ajuste, se aceptó un nivel de significación de  $p<0,017$  para la asociación entre el nivel de estigma y la edad, y uno de  $p<0,008$ , para la asociación entre el nivel de estigma, el nivel educacional y los años transcurridos desde el diagnóstico de la enfermedad. Estas estimaciones se hicieron en el programa SPSS, versión 25.

### **Resultados**

El análisis descriptivo de los patrones de respuesta evidenció una tendencia de los participantes a preferir los extremos de la escala (cuadro 2). En 11 de los 19 ítems una proporción igual o superior al 80 % de los participantes prefirió los extremos, positivos o negativos, de la escala de respuesta, en tanto que, en promedio, solo 0,7 % seleccionó la opción intermedia ('no estoy seguro') (cuadro 2).

Después del análisis descriptivo, se sometió a prueba la estructura factorial original del DSAS 2 utilizando un AFC, el cual no mostró un buen ajuste a los datos ( $RMSEA=0,142$ ;  $CFI=0,758$ ). Por esta razón, se optó por hacer un análisis factorial exploratorio. Un resultado en el índice de Kayser-Meyer-Olkin de 0,74, indicó que la muestra era adecuada para la realización del AFE. El análisis del gráfico de sedimentación evidenció que una solución de cuatro factores sería adecuada. Si bien el quinto factor también poseía un *Eigenvalue* mayor de 1 (1,096), este no agrupó ítems cuya interpretación tuviera sentido teórico. La solución de cuatro factores explicó el 61 % de la varianza presente en los datos y mostró un buen ajuste ( $RMSEA=0,069$ ;  $CFI=0,97$ ;  $TLI=0,95$ ). Las cargas factoriales oscilaron entre 0,43 y 0,93 (cuadro 3). El análisis de confiabilidad mostró valores por encima de 0,7 para tres de los cuatro factores, en tanto que la confiabilidad del factor restante fue extremadamente baja ( $\alpha=0,25$ ).

Dado que los resultados del AFE sugieren que una estructura de tres factores se ajustaría más a los datos, se empleó un AFC para validar dicha estructura considerando 16 ítems después de eliminar los tres que mostraron

problemas en el análisis previo. El modelo con tres factores tuvo un buen ajuste a los datos (RMSEA=0,08; CFI=0,955; TLI=0,947). Sin embargo, el ítem 13 presentó una carga factorial de 0,27, por lo que se eliminó y el modelo confirmatorio se estimó nuevamente (cuadro 3). El modelo final mostró un buen ajuste (RMSEA=0,081; CFI=0,959; TLI=0,95). La correlación entre factores varió entre  $r=0,33$  ( $p<0,05$ ) y  $r=0,54$  ( $p<0,05$ ), lo cual indica que cada subescala refleja un aspecto distinto del estigma hacia la diabetes, diferenciándose de las otras (cuadro 3).

Los 15 ítems que conformaron el DSAS 2 en el modelo final se distribuyeron de la siguiente manera: una subescala con nueve ítems que aborda conjuntamente la percepción de juicio y el trato diferente; una con tres ítems que aborda la culpa asociada a la enfermedad, y una tercera también compuesta por tres ítems que aborda los sentimientos de vergüenza asociados con tener diabetes. La confiabilidad de la escala completa fue de  $\alpha=0,76$ , la de la primera subescala, de  $\alpha=0,71$ , y la de las otras dos, de  $\alpha=0,86$ . Vale la pena señalar que la confiabilidad de la escala con 19 ítems fue muy similar a la de la escala con 15 ítems. Además, la correlación entre ambas fue muy alta.

**Cuadro 2.** Estadísticos descriptivos para cada uno de los ítems de la versión en español del DSAS 2

	Estoy completamente en desacuerdo		Estoy en desacuerdo		No estoy seguro		Estoy de acuerdo.		Estoy completamente de acuerdo.		M	DE
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
Algunas personas piensan que no puedo cumplir con mis responsabilidades (por ejemplo: trabajo, familia) porque tengo diabetes tipo 2.	32	6,4	302	60,3	1	0,2	160	31,9	6	1,2	2,61	1,04
Porque tengo diabetes tipo 2, algunos profesionales de la salud me han juzgado de manera negativa.	18	3,6	178	35,5	0	0,0	268	53,5	37	7,4	3,26	1,13
Porque tengo diabetes tipo 2, algunas personas suponen que tengo sobrepeso o que he tenido sobrepeso en el pasado.	12	2,4	193	38,6	1	0,2	201	40,2	93	18,6	3,34	1,23
Algunas personas me tratan como si estuviera "enfermo/a" porque tengo diabetes tipo 2.	35	7,0	226	45,1	0	0,0	230	45,9	10	2,0	2,91	1,12
Hay culpa y vergüenza con la diabetes tipo 2.	19	3,8	462	92,2	1	0,2	19	3,8	0	0,0	2,04	0,44
Me siento avergonzado/a por mi diabetes tipo 2	21	4,2	455	90,8	2	0,4	22	4,4	1	0,2	2,06	0,49
Me han discriminado en el trabajo por tener diabetes tipo 2.	31	6,2	431	86,2	2	0,4	34	6,8	2	0,4	2,09	0,61
Algunos profesionales de la salud piensan que las personas con diabetes tipo 2 no saben cuidarse.	17	3,4	40	8,0	0	0,0	303	60,8	138	27,7	4,01	0,95
Me da vergüenza tener diabetes tipo 2.	57	11,4	421	84,0	2	0,4	21	4,2	0	0,0	1,97	0,53
Algunas personas me ven como una persona inferior porque tengo diabetes tipo 2.	360	71,9	131	26,1	3	0,6	7	1,4	0	0,0	1,32	0,56
Porque tengo diabetes tipo 2, siento que no soy lo suficientemente bueno/a.	391	78,0	104	20,8	1	0,2	5	1,0	0	0,0	1,24	0,50
La diabetes tipo 2 tiene un estigma negativo por ser una enfermedad de 'estilo de vida'.	8	1,6	53	10,6	21	4,2	382	76,4	36	7,2	3,77	0,79
Tener diabetes tipo 2 me hace sentir como un fracaso.	170	33,9	330	65,9	1	0,2	0	0,0	0	0,0	1,66	0,48
Algunas personas me excluyen de eventos sociales donde hay comidas o bebidas que piensan que no debo comer o beber.	24	4,8	337	67,5	2	0,4	117	23,4	19	3,8	2,54	1,02
Me siento culpable por tener diabetes tipo 2.	17	3,4	274	54,8	6	1,2	196	39,2	7	1,4	2,80	1,05
Me han dicho que yo he causado mi diabetes tipo 2.	11	2,2	166	33,3	2	0,4	231	46,3	89	17,8	3,44	1,18
He sido rechazado/a por otras personas (por ejemplo: amigos, colegas, parejas) porque tengo diabetes tipo 2.	16	3,2	460	91,8	0	0,0	24	4,8	1	0,2	2,07	0,49
Me culpo a mí mismo/a por tener diabetes tipo 2.	17	3,4	244	48,8	14	2,8	219	43,8	6	1,2	2,91	1,05
Porque tengo diabetes tipo 2, algunas personas me juzgan por las comidas que escojo.	6	1,2	91	18,2	3	0,6	308	61,5	93	18,6	3,78	0,99

M: media, DE: desviación estándar. Ítems que conforman cada subescala en la versión en inglés. Trato diferente: 1,4,7,10,14,17. Culpa y ser juzgado: 2,3,5,8,12,16. Autoestigma: 6,9,11,13,15,18

**Cuadro 3.** Análisis factorial para la escala DSAS 2 en español

		Análisis factorial exploratorio				Análisis factorial confirmatorio			Análisis factorial confirmatorio		
		F1	F2	F3	F4	F1: Juicio/ trato diferente	F2: Culpa	F3: Vergüenza	F1: Juicio/ trato diferente	F2: Culpa	F3: Vergüenza
Ítems	1	0,847				0,728			0,73		
	2	0,584				0,639			0,641		
	3	0,312				0,395			0,399		
	4	0,742				0,742			0,74		
	5				0,716			0,841			0,841
	6				0,826			0,908			0,908
	7	0,419				0,603			0,597		
	8	0,521				0,563			0,566		
	9				0,933			0,819			0,811
	10		0,771				-	-	-	-	-
	11		0,732				-	-	-	-	-
	12		0,523				-	-	-	-	-
	13				0,431			0,272	-	-	-
	14	0,447				0,517			0,519		
	15			0,93			0,895			0,895	
	16			0,696			0,719			0,721	
	17	0,645				0,717			0,711		
	18			0,938			0,97			0,97	
	19	0,443				0,494			0,494		
Correlación entre factores	F2: Culpa					0,325			0,326		
	F3: Vergüenza					0,525	0,38		0,535	0,386	
Índices de ajuste	RMSEA		0,069				0,08			0,081	
	CFI		0,97				0,955			0,959	
	TLI		0,95				0,947			0,95	
	Alfa	0,71	0,254	0,86	0,73	0,709	0,86	0,728	0,709	0,86	0,855

La media de los puntajes obtenidos para la escala de 15 ítems fue de 41,8 y la desviación estándar (DE) fue de 6,7, con una mediana de 41 y un rango que osciló entre los 18 y 64 puntos. En el caso de las subescalas, las medias y desviaciones estándar fueron: juicio/trato diferente, media=25,58 y DE=4,83 (mediana=26; rango=12-41); culpa, media=9,15 y DE=2,9 (mediana=8; rango 3-14); vergüenza, media=6,07 y DE=1,29 (mediana=6; rango 3-13).

Se observaron correlaciones significativas entre el puntaje global para el estigma y la autoeficacia ( $r_s = -0,37$ ;  $p < 0,001$ ), el estrés ( $r_s = 0,24$ ;  $p < 0,001$ ), y la presencia de síntomas depresivos ( $r_s = 0,1$ ;  $p = 0,021$ ) (cuadro 4). El mismo patrón se observó al analizar la correlación entre la subescala de trato diferente/juicio y estas variables. Las subescalas de culpa y vergüenza solo se correlacionaron significativamente con la autoeficacia ( $r_s = -0,18$ ;  $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,1$ ;  $p = 0,031$ , respectivamente) (cuadro 4).

Por último, se exploró la asociación entre las variables sociodemográficas y clínicas, y los puntajes del instrumento final (cuadro 5). El ser mujer, el tener menos edad y un menor nivel educativo, el pertenecer al sistema subsidiado de salud, el haber sido diagnosticado más recientemente, el no usar insulina y no presentar complicaciones derivadas de la enfermedad, se asociaron con una mayor percepción del estigma. De las tres subescalas de la versión en español del DSAS 2, la de culpa evidenció la relación más constante con estas variables. Sus puntajes también se asociaron significativamente con el número de controles a los cuales el paciente manifestó haber asistido durante el año anterior. La percepción de ser tratado de forma diferente solo se asoció con el tipo de afiliación al sistema de salud. La subescala de vergüenza no mostró relación con las variables estudiadas (cuadro 5).

**Cuadro 4.** Correlaciones entre la versión en español del DSAS 2 y las variables de interés

	1	2	3	4	5	6	7
DSAS 2	1						
DSAS 2: Trato diferente/juicio	0,86**	1					
DSAS 2: Culpa	0,64**	0,22**	1				
DSAS 2: Vergüenza	0,29**	0,2**	0,1**	1			
Estrés	0,24**	0,27**	0,05	0,04	1		
Autoeficacia	-0,37**	-0,39**	-0,18**	-0,1*	-0,24**	1	
Síntomas depresivos	0,1*	0,14**	-0,05	0,01	0,35**	-0,06	1

p<0,01\*\*; \*p<0,05. DSAS: *Diabetes Stigma Assessment Scale*

**Cuadro 5.** Asociación de las diferentes variables sociodemográficas y clínicas con los puntajes del DSAS 2 en español y con cada una de sus subescalas

		DSAS2 (Mdn)	p	Juicio/ trato diferente	p	Culpa (Mdn)	p	Vergüenza (Mdn)	p
Sexo	Hombre	40	0,015	26	0,333	8	0,002	6	0,274
	Mujer	42		26		10		6	
Edad*	18-44	40	0,001	26	0,04	8	0,001	6	0,809
	45-64	42		26		10		6	
	65-80	41		26		8		6	
	>80	38		24,5		8		6	
Educación*	Primaria	42	0,001	27	0,06	10	<0,001	6	0,965
	Secundaria	41		26		9,5		6	
	Superior	40		25		7		6	
Régimen de afiliación al sistema de salud	Contributivo	40	<0,001	26	0,001	8	0,002	6	0,961
	Subsidiado	42		27		10		6	
Años con* diabetes	≤5	43	<0,001	26	0,95	12	<0,001	6	0,568
	6-15	40		26		8		6	
	>15	39		26,5		6		6	
Uso de insulina	No	42	0,017	26	0,79	10	<0,001	6	0,607
	Sí	40		26		8		6	
Complicaciones asociadas a la diabetes §	No	42	0,975	26	0,248	9	0,088	6	0,846
	Sí	41		27		8		6	
Controles durante el último año §§		-0,05	0,239	-0,004	0,923	-0,14	0,002	0,04	0,351

\*Debido a las comparaciones múltiples se consideró una corrección de Bonferroni. Según esta corrección para la educación, se aceptó como significativo un p<0,017, en tanto que para la edad y los años con diabetes se aceptó como significativo un p<0,008.

§ Reporte de la propia persona sobre la presencia de alguna de las siguientes complicaciones: problemas renales, oculares, heridas o pérdida de extremidades

§§ En el caso de esta variable, se tomó como medida de asociación la correlación de Spearman considerando significativo un p<0,05.

Mdn: mediana

## Discusión

El análisis de la versión en español del DSAS 2 mostró que la inclusión de tres factores y 15 ítems era apropiada. Esta versión evidenció buenos índices de confiabilidad global y de cada una de las tres subescalas. Los puntajes obtenidos se correlacionaron según lo esperado con los niveles de autoestigma y estrés, y con la presencia de síntomas depresivos en la muestra analizada. Hubo una asociación significativa tanto de los puntajes de la escala global como de la subescala de culpa con las características sociodemográficas y clínicas, lo que no se observó con la subescala de vergüenza.

Actualmente, hay dos versiones del DSAS 2 que han mostrado evidencias de su validez y confiabilidad: la original, desarrollada en Australia (11), y una adaptación reciente hecha en Turquía (29), ambas con la misma estructura de tres factores. La versión en español de DSAS 2 también posee tres factores, pero con variaciones en la forma en que se distribuyen los ítems. En el presente estudio, la subescala de trato diferente/juicio (9 ítems) incluyó

cinco de los seis ítems originales de la subescala de trato diferente, y cuatro de los siete de la de culpa y juicio. Los nueve ítems resultantes abordan tanto la percepción de sentirse discriminado (trato diferente) como la de sentirse enjuiciado por otros (prejuicio). Un elemento que puede explicar estos resultados es la estrecha relación existente entre estigma y prejuicio. Después de analizar diferentes modelos teóricos, Phelan, *et al.* (30), sugirieron que hay importantes similitudes entre prejuicio y estigma, especialmente, cuando se trata de su faceta interpersonal, y que una de sus principales diferencias radicaría en el tipo de característica asociada con estos constructos analizada en cada investigación: en los estudios centrados en el prejuicio, se han abordado con mayor frecuencia aspectos como el origen racial y, en los orientados al estigma, la enfermedad y la discapacidad, lo que ayudaría a explicar la configuración que adoptó esta escala en nuestro estudio.

Los ítems de dos de las subescalas originales del DSAS 2 (autoestigma y culpa/juicio) se configuraron en dos nuevas subescalas: una que da cuenta de los sentimientos de culpa derivados de sufrir la enfermedad y otra que representa la percepción de vergüenza asociada con la diabetes. Originalmente, cuatro de los seis ítems de estas dos nuevas subescalas pertenecían a la subescala de autoestigma. Corrigan, *et al.* (31), definieron autoestigma como el proceso mediante el cual las personas adoptan para sí mismas los estereotipos que existen sobre su condición, en este caso, aquellos asociados con tener diabetes de tipo 2. Según los autores, al apropiarse de tales estereotipos, las personas se enjuician y terminan teniendo una percepción devaluada de sí mismas. Tanto la culpa como la vergüenza pueden aparecer como consecuencia de este juicio personal. Estas dos emociones se correlacionan entre sí, tal como se apreció en nuestro estudio, pero presentan importantes diferencias (32,33). La vergüenza implica una devaluación completa de la propia imagen debido a una determinada condición (por ejemplo, tener diabetes), en tanto que la culpa se produce como consecuencia de un acto específico que se considera negativo y sobre el cual tenemos control. Esta diferencia sugiere que, en el caso de la diabetes, ambas emociones podrían derivarse de estereotipos distintos sobre la enfermedad: los que aluden a la diabetes como una enfermedad incapacitante podrían conducir a un daño global de la autoimagen e inducir vergüenza, y aquellos que aluden a la responsabilidad individual de las personas por poseer la enfermedad podrían precipitar la aparición de la culpa (7,8).

De los 19 ítems de la escala original, cuatro se eliminaron en la versión en español. Tres de ellos, con los puntajes más bajos en la muestra analizada, se refieren a sentimientos de inferioridad y fracaso personal que, si bien podrían compartir ciertas similitudes con emociones como la vergüenza, al parecer responden a concepciones distintas de la enfermedad. Es decir, estereotipos no necesariamente ligados a la aparición de la vergüenza precipitarían este tipo de sentimientos de inferioridad. Un cuarto ítem que no mostró buen comportamiento fue el 12, que, a diferencia de los demás, hace referencia a una característica general del estigma hacia la diabetes, pero no alude específicamente a la experiencia personal, lo que explicaría que no apareciera asociado con las dimensiones establecidas.

En su conjunto, la escala mostró asociaciones significativas con la autoeficacia, el estrés y la presencia de síntomas depresivos, lo que concuerda con lo reportado previamente (14-16). Este mismo patrón se observó en la escala de trato diferente y juicio. Sin embargo, las de vergüenza y culpa solo se relacionaron con la autoeficacia, lo que daría luces sobre las

diferencias en los mecanismos involucrados con el estigma en pacientes con diabetes de tipo 2. Previamente, se ha reportado que el autoestigma, constructo relacionado con la culpa y la vergüenza, afectaría principalmente la autoeficacia de los pacientes, perjudicando su capacidad para involucrarse en aspectos importantes de su propio manejo de la enfermedad (17,31). Por otro lado, Dawson, *et al.* (34), sugieren que el estrés sería una variable mediadora en la relación entre la percepción de discriminación y la compensación de pacientes con diabetes.

En cuanto a la asociación de los puntajes del DSAS 2 con las variables sociodemográficas y clínicas, un diagnóstico más reciente de la enfermedad se asoció con una mayor percepción del estigma, tal como se ha demostrado previamente. Algunos autores han sugerido que, cuanto mayor es el tiempo en que una persona vive con una característica estigmatizada, mejores son sus mecanismos de afrontamiento (35,36), lo que ayudaría a explicar por qué las personas de menos edad, que no usan insulina ni presentan complicaciones, perciben más el estigma. Al analizar algunas variables vinculadas con el nivel socioeconómico de los participantes (nivel educativo y tipo de régimen de salud), se observó que niveles socioeconómicos más bajos se relacionaron con mayores niveles de estigma. Estos grupos serían más sensibles a las situaciones que implican estigma y discriminación porque usualmente experimentan la intersección de varias condiciones de este tipo (25). En cuanto al cumplimiento de los controles médicos, hubo una asociación negativa entre esta variable y la percepción del estigma, lo que concuerda con el hallazgo previo de que mayores niveles de estigma se asociarían con un menor uso de los servicios de salud (37). La asociación de los puntajes del DSAS 2 con variables psicosociales, sociodemográficas y clínicas reforzó la validez del instrumento.

Por último, es relevante analizar los patrones de repuesta en el DSAS 2, los cuales pueden verse influenciados por elementos culturales que afectan la comparabilidad del instrumento según el contexto (por ejemplo, diferentes países) (38-40). En el presente estudio, se observó una tendencia de los participantes a preferir los extremos de la escala (positivos o negativos), estilo de repuesta que se conoce como “extremo”. Estos hallazgos difieren de los reportados en el estudio original del DSAS 2 en población australiana (11), el único con evidencia detallada sobre el comportamiento de cada ítem hasta la fecha. En dicho estudio se observó que, aunque muchas preguntas presentaban distribuciones con asimetría hacia la derecha, los pacientes utilizaban con mayor frecuencia la escala de respuesta completa. En diversos estudios se ha evidenciado la influencia cultural en la forma en que las personas enfrentan las escalas de tipo Likert (38-40), especialmente cuando hay un alto grado de distancia con el poder, algo más frecuente en países latinoamericanos que en Australia, un aspecto que se relaciona con la tendencia de las personas a responder en los extremos de la escala (39).

Los hallazgos de este estudio tienen implicaciones para la investigación y la práctica. En la primera, la herramienta permitirá profundizar en los mecanismos del estigma hacia la diabetes y conocer más detalladamente los factores asociados en Colombia y otros países de habla hispana. Por otro lado, sería útil en el ámbito clínico para conocer el grado en que las personas con diabetes de tipo 2 se sienten estigmatizadas e intervenir en este sentido para mejorar su bienestar y prevenir complicaciones derivadas de la enfermedad. En este sentido, los enfoques que consideren tanto a los pacientes como a los proveedores de salud podrían ser efectivos (18). Por

ejemplo, las intervenciones grupales en estos pacientes podrían disminuir la percepción de discriminación e incrementar la autoeficacia (41). Nuestros resultados también sugieren que ciertos grupos, como los integrados por aquellas personas diagnosticadas más recientemente, podrían beneficiarse en mayor medida con estas intervenciones. Otras estrategias podrían involucrar el desarrollo de ciertas habilidades en los profesionales de salud que fortalezcan la relación terapéutica y ayuden a los pacientes a combatir el estigma (14).

Aunque el estudio tiene alcances relevantes, hay algunos aspectos que deben considerarse al interpretar los resultados. Dada la importancia de los estereotipos asociados con la estigmatización de la diabetes, es relevante explorar cómo se expresan estos en países como Colombia, lo que contribuiría a comprender las variaciones observadas en la configuración de los factores del DSAS 2. Además, se recomienda recoger otras evidencias de validez que exploren detalladamente los procesos de repuesta de los participantes, es decir, el grado en el que los ítems de un instrumento activan los procesos mentales esperados (42).

La versión en español del DSAS 2 mostró ciertas variaciones con respecto a la versión original en inglés, sin embargo, demostró suficiente validez y confiabilidad para su uso en población colombiana. Esta escala constituye una herramienta útil en el contexto clínico y en la investigación para abordar el problema del estigma en pacientes con diabetes de tipo 2.

## Referencias

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2019.
2. Vargas-Uricoechea H, Casas-Figueroa LA. An epidemiologic analysis of diabetes in Colombia. *Ann Glob Health*. 2015;81:742-53. <https://doi.org/10.1016/j.aogh.2015.11.001>
3. Gallardo-Rincón H, Cantoral A, Arrieta A, Espinal C, Magnus MH, Palacios C, *et al*. Review: Type 2 diabetes in Latin America and the Caribbean: Regional and country comparison on prevalence, trends, costs and expanded prevention. *Prim Care Diabetes*. 2020;15:352-9. <https://doi.org/10.1016/j.pcd.2020.10.001>
4. Avilés-Santa ML, Monroig-Rivera A, Soto-Soto A, Lindberg NM. Current state of diabetes mellitus prevalence, awareness, treatment, and control in Latin America: Challenges and innovative solutions to improve health outcomes across the continent. *Curr Diab Rep*. 2020;20:62. <https://doi.org/10.1007/s11892-020-01341-9>
5. Speight J, Hendriekx C, Pouwer F, Skinner TC, Snoek FJ. Back to the future: 25 years of 'Guidelines for encouraging psychological well-being' among people affected by diabetes'. *Diabet Med*. 2020;37:1225-9. <https://doi.org/10.1111/dme.14165>
6. Goffman E. *Stigma: Notes on the management of spoiled identity*. New York: J. Aronson; 1974. p.147
7. Gollust SE, Lantz PM. Communicating population health: Print news media coverage of type 2 diabetes. *Soc Sci Med*. 2009;69:1091-8. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2009.07.009>
8. Abdoli S, Doosti Irani M, Hardy LR, Funnell M. A discussion paper on stigmatizing features of diabetes. *Nurs Open*. 2018;5:113-9. <https://doi.org/10.1002/nop2.112>
9. Pedrero V, Alonso L, Manzi J. El estigma asociado a la diabetes: elementos conceptuales, mecanismos involucrados y desafíos. *Salud Uninorte*. 2021;37:205-19. <https://doi.org/10.14482/sun.37.1.610.7>
10. Liu NF, Brown AS, Foliás AE, Younge MF, Guzmán SJ, Close KL, *et al*. Stigma in people with type 1 or type 2 diabetes. *Clin Diabetes*. 2017;35:27-34. <https://doi.org/10.2337/cd16-0020>
11. Browne JL, Ventura AD, Mosely K, Speight J. Measuring the stigma surrounding type 2 diabetes: Development and validation of the type 2 Diabetes Stigma Assessment Scale (DSAS-2). *Diabetes Care*. 2016;39:2141-8. <https://doi.org/10.2337/dc16-0117>

12. Kato A, Yamauchi T, Kadowaki T. A closer inspection of diabetes-related stigma: Why more research is needed. *Diabetol Int.* 2020;11:73-5. <https://doi.org/10.1007/s13340-019-00421-w>
13. Gredig D, Bartelsen-Raemy A. Diabetes-related stigma affects the quality of life of people living with diabetes mellitus in Switzerland: Implications for healthcare providers. *Health and Social Care in the Community.* 2016;25:1620-33. <https://doi.org/10.1111/hsc.12376>
14. Holmes-Truscott E, Ventura AD, Thuraisingam S, Pouwer F, Speight J. Psychosocial moderators of the impact of diabetes stigma: Results from the second diabetes MILES - Australia (MILES-2) Study. *Diabetes Care.* 2020;43:2651-9. <https://doi.org/10.2337/dc19-2447>
15. Kato A, Fujimaki Y, Fujimori S, Isogawa A, Onishi Y, Suzuki R, *et al.* How self-stigma affects patient activation in persons with type 2 diabetes: A cross-sectional study. *BMJ Open.* 2020;10:e034757. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-034757>
16. Puhl RM, Himmelstein MS, Hateley-Browne JL, Speight J. Weight stigma and diabetes stigma in US adults with type 2 diabetes: Associations with diabetes self-care behaviors and perceptions of health care. *Diabetes Res Clin Pract.* 2020;168:108387. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108387>
17. Brown SA, García AA, Brown A, Becker BJ, Conn VS, Ramírez G, *et al.* Biobehavioral determinants of glycemic control in type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Patient Educ Couns.* 2016;99:1558-67. <https://doi.org/10.1016/j.pec.2016.03.020>
18. Nyblade L, Stockton MA, Giger K, Bond V, Ekstrand ML, Lean RM, *et al.* Stigma in health facilities: Why it matters and how we can change it. *BMC Medicine.* 2019;17:25. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1256-2>
19. Lorig KR, Ritter PL, González VM. Hispanic chronic disease self-management: A randomized community-based outcome trial. *Nurs Res.* 2003;52:361-9. <https://doi.org/10.1097/00006199-200311000-00003>
20. Young-Hyman D, Groot Md, Hill-Briggs F, González JS, Hood K, Peyrot M. Psychosocial care for people with diabetes: A position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* 2016;39:2126-40. <https://doi.org/10.2337/dc16-2053>
21. Martínez P, Soto-Brandt G, Brandt S, Guajardo V, Rojas G. Validación inicial de Patient Health Questionnaire 2-Item para detectar síntomas depresivos en diabéticos y / o hipertensos en I atención primaria de salud. *Rev Med Chil.* 2020;148:1614-8. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872020001101614>
22. McGuire BE, Morrison TG, Hermanns N, Skovlund S, Eldrup E, Gagliardino J, *et al.* Short-form measures of diabetes-related emotional distress: The Problem Areas in Diabetes Scale (PAID)-5 and PAID-1. *Diabetologia.* 2010;53:66-9. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1559-5>
23. Beléndez-Vázquez M, Lorente-Armendariz I, Maderuelo-Labrador M. Emotional distress and quality of life in people with diabetes and their families. *Gac Sanit.* 2015;29:300-3. <https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2015.02.005>
24. Beléndez M, Hernández-Mijares A, Marco J, Domínguez JR, Pomares FJ. Validation of the Spanish version of the Problem Areas in Diabetes (PAID-SP) Scale. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;106:e93-e5. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2014.09.012>
25. Yang LH, Chen FP, Sia KJ, Lam J, Lam K, Ngo H, *et al.* "What matters most:" a cultural mechanism moderating structural vulnerability and moral experience of mental illness stigma. *Soc Sci Med.* 2014;103:84-93. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2013.09.009>
26. Geifman N, Cohen R, Rubin E. Redefining meaningful age groups in the context of disease. *Age (Dordr).* 2013;35:2357-66. <https://doi.org/10.1007/s11357-013-9510-6>
27. Morales L. El financiamiento del sistema de seguridad social en salud en Colombia. Santiago, Chile: Comisión Económica para América Latina y El Caribe (CEPAL); 1997.
28. Hair JF. Multivariate data analysis. Eighth edition. Andover, Hampshire: Cengage; 2019. 813 p.
29. Inkaya B, Karadag E. Turkish validity and reliability study of type 2 diabetes stigma assessment scale. *Turk J Med Sci.* 2021;51:1302-6. <https://doi.org/10.3906/sag-2006-255>
30. Phelan J, Link BG, Dovidio JF. "Stigma and prejudice: One animal or two?": *Soc Sci Med.* 2008;67:358-67. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2008.03.022>
31. Corrigan PW, Rao D. On the self-stigma of mental illness: Stages, disclosure, and strategies for change. *Can J Psychiatry.* 2012;57:464-9. <https://doi.org/10.1177/070674371205700804>

32. Gausel N, Leach CW. Concern for self-image and social image in the management of moral failure: Rethinking shame. *Eur J Soc Psychol.* 2011;41:468-78. <https://doi.org/10.1002/ejsp.803>
33. Tracy JL, Robins RW. Appraisal antecedents of shame and guilt: Support for a theoretical model. *Pers Soc Psychol Bull.* 2006;32:1339-51. <https://doi.org/10.1177/0146167206290212>
34. Dawson AZ, Walker RJ, Campbell JA, Egede LE. Effect of perceived racial discrimination on self-care behaviors, glycemic control, and quality of life in adults with type 2 diabetes. *Endocrine.* 2015;49:422-8. <https://doi.org/10.1007/s12020-014-0482-9>
35. Werner P, Aviv A, Barak Y. Self-stigma, self-esteem and age in persons with schizophrenia. *Int Psychogeriatr.* 2008;20:174-87. <https://doi.org/10.1017/S1041610207005340>
36. Brown RL. Perceived stigma among people with chronic health conditions: The influence of age, stressor exposure, and psychosocial resources. *Res Aging.* 2015;37:335-60. <https://doi.org/10.1177/0164027514533133>
37. Clement S, Schauman O, Graham T, Maggioni F, Evans-Lacko S, Bezborodovs N, *et al.* What is the impact of mental health-related stigma on help-seeking? A systematic review of quantitative and qualitative studies. *Psychol Med.* 2015;45:11-27. <https://doi.org/10.1017/S0033291714000129>
38. Smith PB, Vignoles VL, Becker M, Owe E, Easterbrook MJ, Brown R, *et al.* Individual and culture-level components of survey response styles: A multi-level analysis using cultural models of selfhood. *Int J Psychol.* 2016;51:453-63. <https://doi.org/10.1002/ijop.12293>
39. Johnson T, Kulesa P, Cho YI, Shavitt S. The relation between culture and response styles: Evidence from 19 countries. *Journal of Cross-Cultural Psychology.* 2005;36:264-77. <https://doi.org/10.1177/0022022104272905>
40. Pedrero V, Manzi J. Self-beliefs, engagement and motivation in science and mathematics: Are they universal? *Int J Educ Res.* 2020;101:101562. <https://doi.org/10.1016/j.ijer.2020.101562>
41. Cameron J, Voth J, Jaglal SB, Guilcher SJT, Hawker G, Salbach NM. "In this together": Social identification predicts health outcomes (via self-efficacy) in a chronic disease self-management program. *Soc Sci Med.* 2018;208:172-9. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2018.03.007>
42. American Educational Research A, American Psychological A, National Council on Measurement in E. Standards for educational and psychological testing 2014 edition. Washington, D.C: AERA; 2014. p. 230

Original article

## The effectiveness of serum S100B, TRAIL, and adropin levels in predicting clinical outcome, final infarct core, and stroke subtypes of acute ischemic stroke patients

Ozge Altintas Kadirhan<sup>1</sup>, Okkes Taha Kucukdagli<sup>2</sup>, Bedia Gulen<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Neurology, Faculty of Medicine, Korklarelil University, Istanbul, Turkey

<sup>2</sup> Emergency Clinic, Bakirkoy Dr. Sadi Konuk Education and Training Hospital, Istanbul, Turkey

<sup>3</sup> Emergency Department, Faculty of Medicine, Bezmialem Vakif University, Istanbul, Turkey

**Introduction:** More than half of all worldwide deaths and disabilities were caused by stroke. Large artery atherosclerosis is identified as a high etiological risk factor because it accounts for 20% of ischemic stroke.

**Objectives:** To identify the significance of TRAIL and adropin release and the relative changes related to S100B levels, as well as the relationship between these biomarkers and the final infarct core, the clinical outcome, and the presence of large artery atherosclerosis in acute stroke patients.

**Materials and methods:** Over a one-year period, demographic, clinical, and neuroimaging findings of 90 consecutive patients with acute ischemic stroke were evaluated.

**Results:** The mean age of participants was  $69.28 \pm 10$  and 39 patients were female. The increased level of S100B and the decreased levels of sTRAIL with adropin were significantly associated with moderate to severe neurologic presentation ( $p=0.0001$ ,  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ , respectively). On the control CT, a large infarct core was significantly associated with decreased serum levels of sTRAIL and adropin ( $p=0.001$  and  $p=0.000$ , respectively); however, the levels of S100B were not significantly associated with good ASPECTS score ( $p=0.684$ ). Disability and an unfavorable outcome were significantly related to the decreased level of sTRAIL and adropin ( $p=0.001$  and  $p=0.000$  for THRIVE score  $>5$ , respectively). Decreased sTRAIL and adropin levels and an increased S100B level were correlated with the presence of large artery atherosclerotic etiologic factors ( $p=0.000$ ,  $p=0.000$ ,  $p=0.036$ , respectively).

**Conclusion:** TRAIL and adropin serum levels were associated with poor clinical outcomes and greater infarcted area in acute ischemic stroke patients.

**Keywords:** TNF-related apoptosis-inducing ligand; infarction, posterior cerebral artery; stroke.

### Eficacia de los niveles séricos de S100B, TRAIL y adropina para predecir el resultado clínico, el núcleo del infarto final y los subtipos de ataque cerebrovascular de los pacientes con accidente cerebrovascular isquémico agudo

**Introducción.** Más de la mitad de todas las muertes y discapacidades en todo el mundo fueron causadas por accidentes cerebrovasculares. La aterosclerosis de las grandes arterias se identifica como un factor de alto riesgo etiológico debido a que representa el 20 % de los accidentes cerebrovasculares isquémicos.

**Objetivo.** Determinar la importancia de la liberación de TRAIL y adropina y los cambios relativos relacionados con los niveles de S100B, así como la relación entre estos biomarcadores y el núcleo final del infarto, el resultado clínico y la presencia de aterosclerosis de arterias grandes en pacientes con accidente cerebrovascular agudo.

**Materiales y métodos.** Durante un año, se evaluaron los hallazgos demográficos, clínicos y de neuroimágenes de 90 pacientes con accidente cerebrovascular isquémico agudo.

**Resultados.** La edad media de los pacientes fue de  $69,28 \pm 10$  y 39 eran mujeres. El aumento del nivel de S100B y la disminución de los niveles de sTRAIL y adropina se asociaron significativamente con una presentación neurológica moderada a grave en los pacientes ( $p=0,0001$ ,  $p=0,002$  y  $p=0,002$ , respectivamente). En la TC de control, un gran núcleo de infarto se asoció significativamente con una disminución del nivel sérico de sTRAIL y adropina ( $p=0,001$  y  $p=0,000$ , respectivamente); sin embargo, los niveles de S100B no se asociaron significativamente con una buena puntuación en el ASPECT ( $p=0,684$ ). La discapacidad y el resultado desfavorable se relacionaron significativamente con la disminución de los niveles de sTRAIL y adropina ( $p=0,001$  y  $p=0,000$  para una puntuación  $>5$  en el THRIVE, respectivamente). La disminución de los niveles de sTRAIL y adropina y el aumento del nivel de S100B, se correlacionaron con la presencia de un factor etiológico aterosclerótico de arterias grandes entre la población de estudio ( $p=0,000$ ,  $p=0,000$  y  $p=0,036$ , respectivamente).

**Conclusiones.** Los niveles séricos de TRAIL y adropina se asociaron con un resultado clínico deficiente y una mayor área infartada en pacientes con ataque cerebrovascular isquémico agudo.

Received: 18/01/2021

Accepted: 24/09/2021

Published: 05/10/2021

**Citation:**

Altintas-Kadirhan O, Kucukdagli Okkes Taha, Gulen B. The effectiveness of serum S100B, TRAIL, and adropin levels in predicting clinical outcome, final infarct core, and stroke subtypes of acute ischemic stroke patients. Biomédica. 2022;42:55-63.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.5943>

**Corresponding author:**

Ozge Altintas Kadirhan, Department of Neurology, Faculty of Medicine, Korklarelil University, Yayla District, 43. Street/1 Central/Korklarelil, Istanbul, Turkey  
Cell phone: (+90) (537) 701 0676  
dr.ozgealtintas@gmail.com

**Author contributions:**

Ozge Altintas Kadirhan: theoretical formalism, analytic calculations  
Okkes Taha Kucukdagli and Bedia Gulen: data research and collection in Emergency Department  
Bedia Gulen: project supervision.  
All authors discussed the results and contributed to the final manuscript.

**Funding:**

The study was supported by the Scientific Research Project Foundation funded by the Bezmialem Vakif University (Decision No: 06.2015/19).

**Conflicts of interest:**

The authors have no conflicts of interest to disclose.

**Palabras clave:** ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF; infarto de la arteria cerebral posterior; accidente cerebrovascular.

More than half of all deaths and disabilities worldwide are caused by strokes (1,2). Extracranial and intracranial large artery atherosclerosis (LAA) has been identified as a high etiologic risk factor as it accounts for 20% of ischemic strokes (2,3). Diabetes is an independent risk factor for stroke given its involvement in the atherosclerotic process (4). Recent research has shown that increased blood glucose levels were associated with large ischemic core volume and poor post-stroke clinical prognosis (5).

Dysfunctional endothelium contributes to atherosclerosis initiation and progression (3,6). The tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is part of the TNF superfamily that activates the apoptotic pathways underlying cell damage and disease progression (7). Recent studies have shown that TRAIL might contribute to stabilizing atherosclerotic lesions and ameliorating endothelial dysfunction by increasing the release of nitric oxide (8). Adropin is a recently identified regulatory protein in the potential biological mechanism of insulin sensitivity and endothelial function (9). A previous study in patients with acute myocardial infarction determined that the angiographic severity of coronary atherosclerosis was closely related to low adropin levels (10).

S100B is a useful “acute-phase” neurobiochemical marker of brain damage closely associated with plaque instability and oxidative stress in stroke patients (11). Based on these findings, we aimed, first, to study the significance of TRAIL and adropin release and the relative changes related to S100B levels in acute stroke patients and, secondly, to analyze the association between these biomarkers and the final infarct core, the clinical outcomes, and the presence of large artery atherosclerosis combined with neuroimaging and clinical risk assessment tools in acute stroke patients.

## Materials and methods

We conducted a prospective observational study at an emergency room (ER) and neurology department over a one-year period. We prospectively studied 90 ischemic stroke patients (ischemic infarct) admitted to the ER in the first 24 h after symptoms onset. Detailed data were registered prospectively for each patient including demographics, vascular risk factors, admission glucose levels, and admission blood pressure levels. A non-contrast computed tomography (CT) brain scan was performed to rule out hemorrhagic stroke on admission. On baseline and the 24-hour control CT, we evaluated the Alberta Stroke Program Early computed tomography Score (ASPECTS). Early ischemic changes in the middle cerebral artery territory were quantified by the ASPECT scoring system where a score of 10 indicates a normal state and one point is subtracted for each infarcted region (12). Patients with an ASPECT score of 6 to 10 were classified as having a small infarct core according to previous research (13). All patients underwent carotid duplex ultrasonography and magnetic resonance angiography due to diagnosed extracranial and intracranial atherothrombosis.

Large artery atherosclerosis was defined according to the Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) classification system (14). Carotid Doppler ultrasonography and brain imaging methods were used to determine accurately the etiological risk factor. Significant stenosis was defined as a 50% or more diameter reduction in the internal cerebral artery or a narrowing of the vessel lumen due to vascular remodeling following atherosclerosis (14).

The National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) score was calculated for each patient on admission. The modified Rankin Scale (mRS) was recorded on admission and in the first and third months. Patients with mRS 0-2 were classified as having good neurologic outcomes. On admission, we calculated the Total Health Risks in Vascular Events (THRIVE score, including the presence of hypertension, diabetes, and atrial fibrillation, baseline NIHSS score and patient age) for each patient. A THRIVE score from 0 to 5 indicated a good clinical recovery and prognosis (15).

After admission to the ER, blood samples were taken from each patient to evaluate the biomarkers under study. The results were recorded in pg/L for sTRAIL and S100B and in ng/ml for adropin after analyzing the samples with the sandwich enzyme immunoassay method according to the manufacturer's protocol (S100B Elisa Kit: Cat No: E 3039 Bioassay Technology Laboratory Co., Ltd., China; sTRAIL Elisa Kit: Cat No: E 1824 Bioassay Technology Laboratory Co., Ltd., China; Adropin Elisa Kit: Cat No: 201 12 3107 Sunred Technology Laboratory Co., Ltd., China).

All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics 20 (USA) and the Microsoft Office Excel software. Comparative analyses between the study biomarkers and initial and third-month mRS, initial NIHSS, initial and control ASPECTS, initial THRIVE, and LAA presence were performed using the Chi-square test ( $\chi^2$  test), independent samples t-test, or Mann-Whitney U-test. When the expected frequency was five or less and then five, we used Fischer's exact test. Age and test values were all expressed as means  $\pm$  standard deviations (SD). For all tests, a two-tailed P value  $< 0.05$  was considered statistically significant with confidence intervals (CI) of 95%. A receiver operating characteristic (ROC) curve was constructed to determine the area under the curve (AUC) and the sensitivity and specificity levels of biomarkers for outcome predictions.

### **Ethics statement**

The Research Ethics Committee at Bezmiâlem Vakif University approved all the study procedures (Decision No: 11/30 June 03/2015).

### **Results**

Participants' mean age was  $69.28 \pm 10$  and 39 of them were female (43.3%). The leading vascular risk factor was hypertension (71.1%). The baseline characteristics of patients are shown in table 1.

Upon admission to the ER, patients had a mean NIHSS score of  $17.08 \pm 4.65$  points; 84 of 90 had moderate to severe stroke with an NIHSS score higher than 10. After the stroke onset, favorable mRS scores of 0-2 were found in 7.8% of the patients ( $n=7$ ). A significant proportion of patients completely recovered with slight or no long-term disabilities. In the third month, 51 (56.7%) patients had favorable neurologic outcomes with 0-2 mRS scores. Two patients died two months after discharge; 74 (82.2%) had good clinical recovery after the stroke with initial 0 to 5 THRIVE scores. The distribution of baseline and follow-up clinical scores to measure good clinical outcomes and small infarct core are shown in figure 1.

According to the TOAST stroke subtypes, 24 (26.7%) patients had large artery atherosclerosis, two had internal carotid artery (ICA) occlusion, seven had middle cerebral artery (MCA) M1 segment occlusion, five had unilateral ICA stenosis, and eight had unilateral MCA M1 segment stenosis while only

two had bilateral ICA stenosis and no tandem occlusion was observed. In 22 of the patients, we detected a large infarct burden (ASPECTS <6) on control cranial CT scans but no hemorrhagic transformation on the control brain scans.

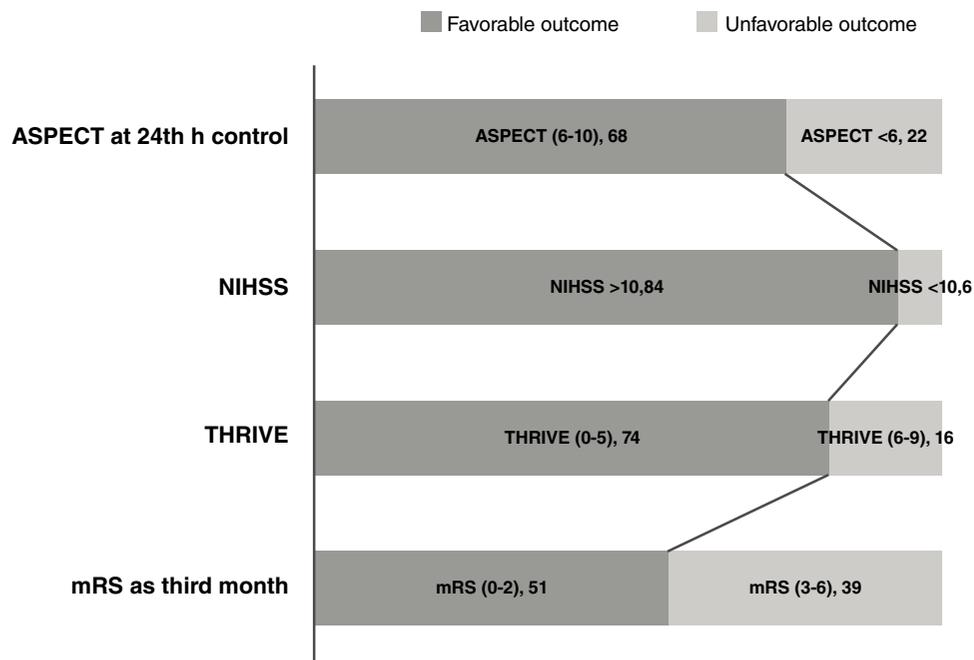
**Table 1.** Baseline characteristics of the patients at admission to the emergency room

Characteristics	All study patients (n=90)	LAA etiology (+) stroke patients (n=24)	LAA etiology (-) stroke patients (n=66)
Demographics			
Age †	69.28 ± 10 (42-87)	63.88 ± 10,75 (42-77)	71.24 ± 9,02 (45-87)
Sex			
Female (n, %)	39 (43.3)	12 (13.3)	39 (43.3)
Male (n, %)	51 (56.7)	12 (13.3)	27 (30)
Medical and drug history			
Hypertension (n, %)	64 (71.1)	15 (62,5)	49 (74.2)
Diabetes mellitus (n, %)	12 (13.3)	6 (25)	6 (50)
Hyperlipidemia (n, %)	27 (30)	8 (33.3)	19 (70.4)
Coronary heart disease (n, %)	20 (22.2)	7 (29.2)	13 (65)
Current smoking habit (n, %)	15 (23.3)	1 (4.2)	14 (93.3)

Note: (n, %)

† Mean ± SD (data in parentheses is the range)

LAA: Large artery atherosclerosis; ASPECTS: Alberta Stroke Program Early Computed Tomography Score; NIHSS: The National Institutes of Health Stroke Scale; THRIVE: Totalled Health Risks in Vascular Events



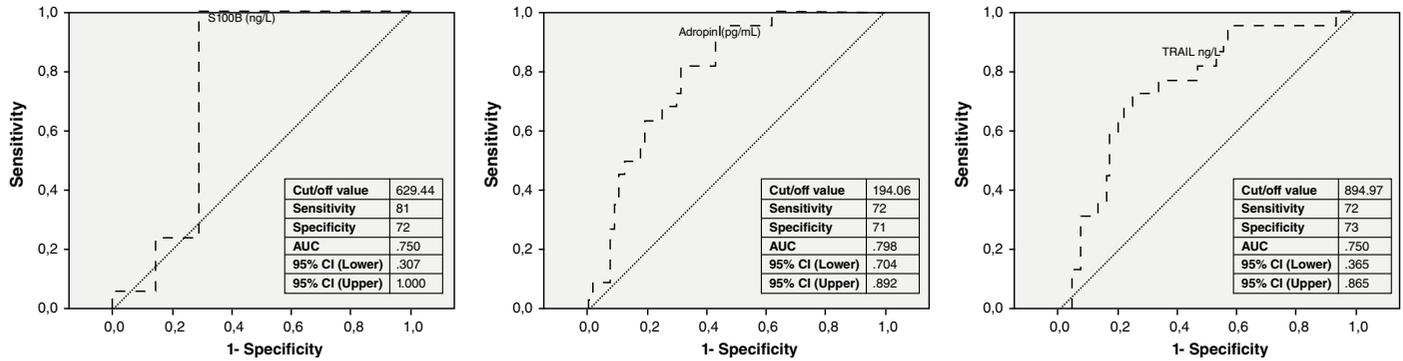
ASPECT: Alberta Stroke Program Early Computed Tomography Score; NIHSS: The National Institutes of Health Stroke Scale; THRIVE: Totalled Health Risks in Vascular Events; mRS: modified Rankin score

**Figure 1.** Distribution of baseline and follow-up clinical scores to measure good clinical outcomes and small infarct core in the study patients.

The increased level of S100B and the decreased levels of sTRAIL and adropin were significantly associated with moderate to severe neurologic presentation corresponding to an NIHSS score higher than 10 ( $p=.0001$ ,  $p=.002$ ,  $p=.002$ , respectively). On the control CT, a large infarct core was significantly associated with decreased serum levels of sTRAIL and adropin ( $p=.001$  and  $p=.000$ , respectively); however, the levels of S100B were not significantly associated with a good ASPECT score ( $p=.684$ ). Disability and unfavorable outcomes were significantly related to decreased levels of sTRAIL and adropin ( $p=.001$  and  $p=.000$  for THRIVE scores  $>5$ , respectively) whereas there was no significant relationship with serum S100B levels ( $p=.291$  for THRIVE score  $>5$ ). Good prognosis in the third month was also significantly related to sTRAIL and adropin levels ( $p=.001$  and  $p=.000$  for mRS 0-2, respectively) while there was no significant relationship with the level of S100B ( $p=.291$  for mRS 0-2). Decreased levels of sTRAIL and adropin and increased levels of S100B were significantly correlated to the presence of a large artery atherosclerotic etiologic factor ( $p=.000$ ,  $p=.000$ ,  $p=.036$ , respectively). Clinical and laboratory parameters of the patients at admission to the emergency department are shown in table 2. In a previous study, researchers have shown that adropin is especially related to insulin resistance (16). In a subgroup analysis, we found that six stroke patients with LAA had diabetes, a known vascular risk factor, and 12 of them had decreased adropin levels. We did not find any relationship between the study biomarkers and vascular risk factors, admission serum glucose levels, and admission systolic-diastolic blood pressure levels. The biomarkers under study (sTRAIL, adropin, S100B) were compared with vascular risk factors using the Mann-Whitney test; 39 patients had more than one risk factor (43.3%). The test revealed that only S100B levels were significantly correlated with more than one risk factor ( $p=.013$ ).

**Table 2.** Clinical and laboratory parameters of the patients at admission to the emergency room.

Characteristics	All study patients (n=90)	LAA etiology (+) stroke patients (n=24)	LAA etiology (-) stroke patients (n=66)	p value
Clinical and laboratory parameters				
Glucose (mg/dl) at admission	138.07 ± 63.21 (76-350)	150.9 ± 69.9 (89-350)	133.41 ± 60.5 (76-350)	.657
Systolic blood pressure (mmHg) at admission	154.81 ± 33.43 (80-240)	159 ± 26 (120-230)	153.3 ± 35.8 (80-240)	.233
Diastolic blood pressure (mmHg) at admission	80 ± 13.58 (40-110)	82.92 ± 12.61 (66-110)	78.95 ± 13.84 (40-110)	.178
S100B (ng/L) at admission	976.33 ± 543.75 (164.38-2906.44)	1174.93 ± 611.61 (599.62-2678.58)	904.11 ± 502.60 (164.38-2906.44)	<b>.036</b>
TRAIL (ng/L) at admission	2542.59 ± 1382.9 (945.01-6580.75)	3501.82 ± 1353.93 (1385.11-6580.75)	2193.76 ± 1068.42 (945.01-5695.73)	<b>.000</b>
Adropin (pg/ml) at admission	240.62 ± 91.60 (1131.11 ± 455.23)	156.75 ± 27.1 (113.11 ± 198.42)	271.11 ± 87.7 (122.62 ± 455.23)	<b>.000</b>
ASPECT score at admission	9.2 ± 1 (7-10)	8.42 ± 1.21 (7-10)	9.48 ± 0.75 (7-10)	<b>.000</b>
ASPECT Score at control (at 24th hr.)	7.4 ± 1.2 (4-9)	6.2 ± 1.25 (4-9)	7.33 ± 1 (5-9)	<b>.000</b>
NIHSS score at admission	17.08 ± 4.65 (4-25)	22.38 ± 1.95 (19-25)	15.15 ± 3.76 (4-20)	<b>.000</b>
THRIVE score at admission	4 ± 1.27 (1-7)	5.2 ± 1.4 (2-5)	3.6 ± 0.92 (1-7)	<b>.000</b>



AUC: Area under the curve; ROC: Receiver operating characteristic; CI: Confidence intervals

**Figure 2.** ROC curve analyses of the biomarkers in predicting favorable outcomes in stroke patients

We calculated the cut-off values of these biomarkers for our study subjects to determine good clinical outcomes and a small infarct core. For S100B, the cut-off value was 427 ng/L, sensitivity was 100%, specificity was 100%, and the AUC was 1.000 in the ROC curve. For sTRAIL, the cut-off value was 1705.93 ng/L, sensitivity was 86%, specificity was 66%, and the AUC was .143 in the ROC curve. The cut-off value for adropin was 388.7 pg/mL, sensitivity was 98%, specificity was 83%, and the AUC was .028 in the ROC curve. The ROC curve analyses for biomarkers predicting favorable outcomes in stroke patients are shown in figure 2.

## Discussion

We analyzed 90 acute stroke patients in our study; in 24 of them with large artery atherosclerosis, we found a significant association with the predictor biomarkers for good clinical outcomes and small infarct core.

Ongoing trials have aimed to determine a predictor biomarker to estimate post-stroke survival rate, disability, and final infarct core. S100B is a calcium-binding protein that has been a well-known serological biomarker of blood brain barrier dysfunction and damage after cerebral injury (17).

Increased levels of serum S100B protein could predict the severity of brain damage and the survival rate. A recent study found that S100B protein was significantly correlated with final brain damage and early neurologic disability in 32 acute stroke patients (18). In a study conducted by Weglewski, *et al.*, serum S100B protein concentrations in acute ischemic stroke patients admitted to the hospital within 24 hours showed a significant correlation with the final infarct core in those with moderate to severe stroke (11). Park, *et al.* examined 111 acute stroke patients and found that serum S100B levels were associated significantly with early and late neurologic disability (19). In our study, the evaluation of the biomarkers were measured at a single time within 24 hours after stroke onset. Many studies have showed that the levels of S100B protein could gradually rise within three days after stroke onset. The reason could probably explain why we found a significant association between the increased level of serum S100B protein and initial NIH scores as an early neurologic outcome. If we take this finding into account, we could suggest that to determine the relations between long-term neurological survival rate and S100B protein serum levels, the blood sampling could be done 48-72 hours after stroke onset.

In pathophysiological analyses of various diseases has showed that TRAIL could play a role on inducing apoptosis of endothelial cells and inflammation of the arterial wall and promoting atherosclerotic plaques formation (20).

Recently, researchers have shown that serum TRAIL (sTRAIL) levels correlated with stroke outcomes that evaluated at first week after stroke onset (21). Similarly, another study found that low sTRAIL levels was associated with stroke severity in 293 patients seven days after stroke onset (22). In a different way, here we showed the biological significance of sTRAIL inversely related to both early and late neurological prognosis, final infarct core, and the presence of large artery atherosclerosis within 24 hours of stroke onset suggesting that TRAIL might be involved in neuroprotective processes in ischemic stroke.

Adropin plays a crucial role in vascular health and insulin sensitivity (16). Wu, *et al.* discovered that decreased adropin levels in diabetic patients were significantly correlated with coronary atherosclerotic damage as compared with non-diabetic ones among 392 patients with acute coronary syndrome (23). In an experimental study, the researchers have suggested that the increased expression of adropin might positively affect plaque stability and vascular elasticity to attenuate atherosclerosis (24). Gu, *et al.* discovered that adropin was negatively correlated with primary hypertension in 123 newly diagnosed patients (25). Similarly, the researchers reported that patients with cardiac syndrome X had lower adropin levels than other study patients (26). Altamimi, *et al.* concluded that adropin had a positive effect on cardiac metabolism associated with insulin resistance in an experimental study (27). In our study, we found that low adropin levels were associated with a large infarct core and initial and long-term disability and that all stroke patients with diabetes had decreased adropin levels.

Atherosclerosis is an important mechanism in LAA stroke and the process involves the immune system response and vascular inflammation (14). Secchiro, *et al.* showed that plasma TRAIL levels were lower in patients with myocardial infarction (28), and Cartland, *et al.* concluded that TRAIL protected against atherosclerosis by reducing inflammatory cells (29). Similarly, Sato, *et al.* suggested that adropin could contribute to antiatherosclerosis by modulating inflammatory molecule expression and smooth cell proliferation (24). Indeed, clinical studies have found that adropin plasma levels could contribute to the prevention of coronary artery diseases (30). In our three-month follow-up, we found that TRAIL and adropin plasma levels negatively correlated with LAA prognosis as measured by mRS. Therefore, we suggest that TRAIL and adropin may be involved in the LAA stroke prognosis and that plasma levels of the biomarkers under study may play a significant role in predicting LAA stroke patients' prognosis.

Our study had several limitations. First, the sample size was small and the predictive cut-off values of serum adropin and TRAIL need to be further confirmed in large-cohort studies. Secondly, studies using other techniques, such as carotid ultrasonography to measure the intima-media thickness of

the common carotid artery, could be included to evaluate the relationship between subclinical atherosclerosis and the serum biomarkers and to determine high-risk patients without any clinical manifestations. Thirdly, further studies should evaluate more specially the level of these biomarkers in the samples of atherosclerotic plaque, carotid tissue, or saliva rather than serum levels. Providing saliva as a sample for adropin and TRAIL measurements

would be advantageous as it would allow for non-invasive sampling compared to invasive blood sampling for serum levels testing. Finally, our study results could only showed single-timing serum adropin-TRAIL levels our measurements in acute stroke patients, so further studies should be designed to determine temporal changes in these biomarker levels.

Here we determined the changes of S100B, TRAIL, and adropin levels on atherothrombotic cerebrovascular disease. S100B, TRAIL, and adropin levels correlated inversely in acute stroke patients. Large infarct core and unfavorable early and late neurologic outcomes were significantly associated with the study biomarkers, which taken as the sole biomarker are not sufficient for which it is necessary to combine them with clinical risk scores and neuroimaging data in stroke patients. Further could evaluate that Adropin and TRAIL might be a potent therapeutic agent in acute stroke patients due to potential roles in cellular signaling pathways that lead to pathogenesis and/or treatment of stroke.

## References

1. Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ, Appel LJ, Braun LT, Chaturvedi S, *et al.* Guidelines for the primary prevention of stroke: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2014;42:517-84. <https://doi.org/10.1161/STR.0000000000000046>
2. Powers WJ, Derdeyn CP, Biller J, Coffey CS, Hoh BL, Jauch EC, *et al.* 2015 American Heart Association/American Stroke association focused update of the 2013 guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke regarding endovascular treatment. *Stroke*. 2015;46:3020-35. <https://doi.org/10.1161/STR.0000000000000074>
3. Campbell BCV, De Silva DA, Macleod MR, Coutts SB, Schwamm LH, Davis SM, *et al.* Ischaemic stroke. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5:70. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0118-8>
4. Hewitt J, Castilla-Guerra L, Fernández-Moreno M del C, Sierra C. Diabetes and stroke prevention: A review. *Stroke Res Treat*. 2012;673187. <https://doi.org/10.1155/2012/673187>
5. Prakash R, Li W, Qu Z, Johnson MA, Fagan SC, Ergul A. Vascularization pattern after ischemic stroke is different in control versus diabetic rats: Relevance to stroke recovery. *Stroke*. 2013;44:2875-82. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001660>
6. Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation*. 2003;108:2054-9. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000089191.72957.ED>
7. Tisato V, Gonelli A, Voltan R, Secchiero P, Zauli G. Clinical perspectives of TRAIL: Insights into central nervous system disorders. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73:2017-27. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2164-7>
8. Secchiero P, Zauli G. TRAIL, a new weapon against neointimal hyperplasia. *Cardiology*. 2012;123:94-6. <https://doi.org/10.1159/000342983>
9. Marczuk N, Cecerska-Heryć E, Jesionowska A, Dołęgowska B. Adropin - physiological and pathophysiological role. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016;70:981-8. <https://doi.org/10.5604/17322693.1220082>
10. Wu L, Fang J, Chen L, Zhao Z, Luo Y, Lin C, *et al.* Low serum adropin is associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetic and non-diabetic patients. *Clin Chem Lab Med*. 2013;52:751-8. <https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0844>
11. Weglewski A, Ryglewicz D, Mular A, Juryńczyk J. Changes of protein S100B serum concentration during ischemic and hemorrhagic stroke in relation to the volume of stroke lesion. *Neurologia i Neurochirurgia Polska*. 2005;39:310-7.
12. Barber PA, Demchuk AM, Zhang J, Buchan AM. Validity and reliability of a quantitative computed tomography score in predicting outcome of hyperacute stroke before thrombolytic therapy. *Lancet*. 2000;355:1670-4. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(00\)02237-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(00)02237-6)
13. Goyal M, Demchuk AM, Menon BK, Eesa M, Rempel JL, Thornton J, *et al.* Randomized assessment of rapid endovascular treatment of ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2015;372:1019-30. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1414905>

14. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, *et al.* Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993;24:35-41. <https://doi.org/10.1161/01.str.24.1.35>
15. Flint AC, Cullen SP, Rao VA, Faigeles BS, Pereira VM, Levy EI, *et al.* The THRIVE score strongly predicts outcomes in patients treated with the Solitaire device in the SWIFT and STAR trials. *Int J Stroke*. 2014;9:698-704. <https://doi.org/10.1111/ijis.12292>
16. Aydin S. Three new players in energy regulation: Preptin, adropin and irisin. *Peptides*. 2014;56:94-110. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.03.021>
17. Dassan P, Keir G, Brown M. Criteria for a clinically informative serum biomarker in acute ischaemic stroke: A review of S100B. *Cerebrovasc Dis*. 2009;27:295-302. <https://doi.org/10.1159/000199468>
18. Wunderlich MT, Wallesch CW, Goertler M. Release of neurobiochemical markers of brain damage is related to the neurovascular status on admission and the site of arterial occlusion in acute ischemic stroke. *J Neurol Sci*. 2004;227:49-53. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2004.08.005>
19. Park SY, Kim MH, Kim OJ, Ahn HJ, Song JY, Jeong, JY, *et al.* Plasma heart-type fatty acid binding protein level in acute ischemic stroke: Comparative analysis with plasma S100B level for diagnosis of stroke and prediction of long-term clinical outcome. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013;115:405-10. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2012.06.004>
20. Watt V, Chamberlain J, Steiner T, Francis S, Crossman D. TRAIL attenuates the development of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice. *Atherosclerosis*. 2011;215:348-54. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.01.010>
21. Tufekci KU, Vurgun U, Yigitaslan O, Keskinoglu P, Yaka E, Kutluk K, *et al.* Follow-up analysis of serum TNF-related apoptosis-inducing ligand protein and mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells from patients with ischemic stroke. *Front Neurol*. 2018;9:102. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00102>
22. Kang YH, Park MG, Noh KH, Park HR, Lee HW, Son SM, *et al.* Low serum TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) levels are associated with acute ischemic stroke severity. *Atherosclerosis*. 2015;240:228-33. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.03.028>
23. Wu L, Fang J, Chen L, Zhao Z, Luo Y, Lin C, *et al.* Low serum adropin is associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetic and non-diabetic patients. *Clin Chem Lab Med*. 2014;52:751-8. <https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0844>
24. Sato K, Yamashita T, Shirai R, Shibata K, Okano T, Yamaguchi M, *et al.* Adropin contributes to anti-atherosclerosis by suppressing monocyte-endothelial cell adhesion and smooth muscle cell proliferation. *Int J Mol Sci*. 2018;19:1293. <https://doi.org/10.3390/ijms19051293>
25. Li L, Xie W, Zheng XL, Yin WD, Tang CK. A novel peptide adropin in cardiovascular diseases. *Clin Chim Acta*. 2016;453:107-13. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.12.010>
26. Celik A, Balin M, Kobat K, Erdem MA, Baydas A, Bulut M, *et al.* Deficiency of a new protein associated with cardiac syndrome X, called adropin. *Cardiovasc Ther*. 2013;31:174-8. <https://doi.org/10.1111/1755-5922.12025>
27. Altamimi TR, Gao S, Karwi QG, Fukushima A, Rawat S, Wagg CS, *et al.* Adropin regulates cardiac energy metabolism and improves cardiac function and efficiency. *Metabolism*. 2019;98:37-48. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2019.06.005>
28. Secchiero P, Corallini F, Ceconi C, Parrinello G, Volpato S, Ferrari R, *et al.* Potential prognostic significance of decreased serum levels of TRAIL after acute myocardial infarction. *PLoS ONE*. 2009;4:e4442. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004442>
29. Cartland SP, Genner SW, Martínez GJ, Robertson S, Kockx M, Lin RC, *et al.* TRAIL-expressing monocyte/macrophages are critical for reducing inflammation and atherosclerosis. *iScience*. 2019;12:41-52. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2018.12.037>
30. Butler AA, St-Onge MP, Siebert EA, Medici V, Stanhope KL, Havel PJ. Differential responses of plasma adropin concentrations to dietary glucose or fructose consumption in humans. *Sci Rep*. 2015;5:14691. <https://doi.org/10.1038/srep14691>

Artículo original

## Experiencia en el uso de los protocolos Biomed-2 para el estudio de reordenamientos de TCR e inmunoglobulinas en proliferaciones linfoides en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia

Nicolás Villamizar-Rivera<sup>1,2</sup>, Natalia Olaya<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Patología Oncológica, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

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

<sup>3</sup> Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** El consorcio europeo BIOMED-2 se creó para determinar si una población linfóide de difícil clasificación patológica es clonal. En Colombia, la implementación de estas pruebas comenzó en el 2015 en el Instituto Nacional de Cancerología E.S.E. (Bogotá).

**Objetivos.** Determinar el comportamiento de las pruebas de reordenamiento clonal o clonalidad linfóide, y determinar las dificultades de su uso en nuestro medio verificando su adaptación local y los resultados en una serie retrospectiva de casos y consecutiva de proliferaciones linfoides sometidas a los protocolos BIOMED-2.

**Materiales y métodos.** A partir de las historias clínicas, se recolectaron los datos clínicos e histológicos y los resultados de los análisis de los reordenamientos en todos los casos de proliferaciones linfoides sometidas a los protocolos BIOMED-2, entre febrero de 2015 y mayo de 2019.

**Resultados.** Se hallaron 132 casos, de los cuales 47 se clasificaron mediante los protocolos de Biomed-2 como hiperplasias linfoides reactivas, 62 como linfomas T, 19 como linfomas B y 3 como neoplasias linfoides de linaje no establecido. Solo en un caso falló la extracción de ADN. Según estos resultados, la mayor dificultad diagnóstica para el patólogo fue el análisis de los infiltrados linfoides T, la mayoría (44) de los cuales correspondía a lesiones cutáneas.

**Conclusiones.** Las pruebas de clonalidad pueden usarse en tejidos de diversa calidad en nuestro medio como ayuda en el diagnóstico de proliferaciones linfoides de difícil clasificación. Es importante hacerlas e interpretarlas de manera multidisciplinaria y considerar cada caso por separado.

**Palabras clave:** linfoma; reordenamiento génico de linfocito T; inmunoglobulinas; genes codificadores de los receptores de linfocitos T; electroforesis en gel de poliacrilamida.

**Experience with the BIOMED-2 standardized polymerase chain reaction protocol for immunoglobulin and T- cell receptor clonality analysis in the *Instituto Nacional de Cancerología*, Colombia**

**Introduction:** The European BIOMED-2 consortium was created to evaluate clonality in lymphoproliferations that are difficult to diagnose. In Colombia, the implementation of these tests began in 2015 at the *Instituto Nacional de Cancerología E.S.E.*, Bogotá.

**Objectives:** To determine the behavior of the rearrangement tests for lymphoid clonality and the difficulties of its implementation in our field through a series of retrospective and consecutive cases of lymphoid proliferation subjected to the BIOMED-2 protocols.

**Materials and methods:** Clinical and histological data and the results of the rearrangement analysis of all cases of lymphoid proliferation subjected to the BIOMED-2 protocols between February 2015 and May 2019 were collected from clinical histories.

**Results:** We recovered 132 samples from which 47 corresponded to reactive lymphoid hyperplasias, 62 to T lymphomas, 19 to B lymphomas, and three to lymphoid neoplasms of unestablished lineage. Only in one case did DNA extraction fail. According to these results, the greatest diagnostic difficulty for the pathologist was the analysis of T lymphoid infiltrates, most of which (44) were skin lesions.

**Conclusions:** Clonality tests can be used in tissues of different quality to help in the diagnosis of lymphoid proliferations that are difficult to classify. It is important to implement and interpret them in an interdisciplinary way considering each case separately.

**Keywords:** Lymphoma; gene rearrangement, T-lymphocyte; immunoglobulins; genes, T-cell receptor; electrophoresis, polyacrylamide gel.

**Recibido:** 10/12/2020

**Aceptado:** 01/10/2021

**Publicado:** 06/10/2021

**Citación:**

Villamizar-Rivera N, Olaya N. Experiencia en el uso de los protocolos Biomed-2 para el estudio de reordenamientos de TCR e inmunoglobulinas en proliferaciones linfoides en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia. *Biomedica*. 2022;42:64-78. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5940>

**Correspondencia:**

Natalia Olaya, Grupo Patología Oncológica, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (316) 763 5518  
natolaya@gmail.com

**Contribución de los autores:**

Nicolás Villamizar-Rivera: realización de los experimentos y escritura del manuscrito  
Natalia Olaya: concepción de la idea, análisis de resultados y escritura del manuscrito

**Financiación:**

El estudio se llevó a cabo en el Grupo de Patología Oncológica del Instituto Nacional de Cancerología. Los análisis posteriores y la discusión de resultados no recibieron ningún tipo de financiación adicional.

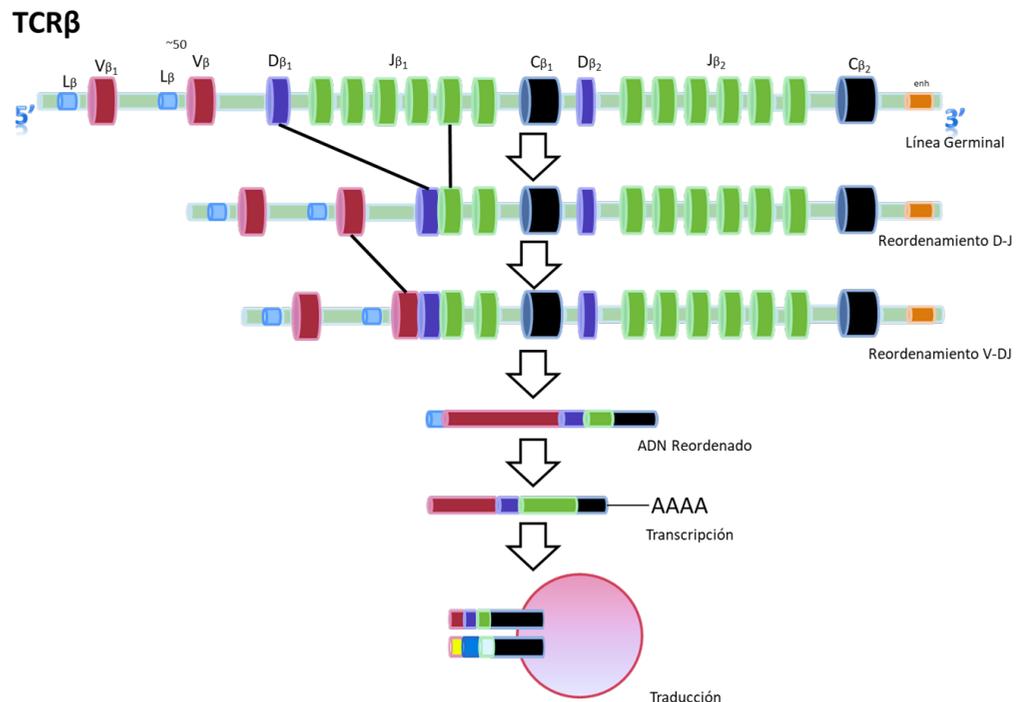
**Conflicto de intereses:**

Los autores declaramos que no tienen vínculos comerciales o asociativos que entrañen un conflicto de intereses para la publicación de este manuscrito.

Los linfomas son neoplasias malignas que surgen de cualquier célula del linaje linfoides y representan cerca del 10 % de los cánceres registrados en el Instituto Nacional de Cancerología (1,2) donde, en el 2015, se registraron 588 nuevos casos de tumores de los tejidos hematopoyético y linfoides (3). El diagnóstico de estas enfermedades se basa en la correlación de los hallazgos clínicos, la morfología de las células, la inmunohistoquímica, la citometría de flujo (4) y las pruebas de biología molecular (5).

Según van Dongen, *et al.* (6), incluso en centros de alto nivel, alrededor del 15 % de las proliferaciones linfoides no puede diagnosticarse con estas herramientas. Al parecer, este valor es una estimación de los autores, pues no hay estudios que determinen cuál es el grado de dificultad que los hematopatólogos enfrentan para clasificar una muestra como maligna o benigna.

En cada linfocito la recombinación somática elabora un exón que codifica para la región variable a partir de la selección de un segmento variable (V), un segmento de unión (J) y un segmento de diversidad (D), así como de la adición de nucleótidos N y P que posteriormente se transcriben en ARNm y, finalmente, se traducen y maduran en una proteína funcional (figura 1). El segmento D solo está presente en los *loci* de las cadenas pesadas de Ig, en tanto que los *loci*  $\beta$  y  $\delta$  son exclusivos de las del TCR. La recombinación alélica ocurre cuando se unen los fragmentos variables de diversidad y unión, la llamada recombinación V(D)J, que se regula por medio de exclusión alélica; una vez que un alelo se ha reordenado, se envía una señal al otro para interrumpir el proceso (7).



Se muestra el reordenamiento de la cadena beta del receptor de células T (TCR), proceso que es muy similar para las demás cadenas del TCR y para las inmunoglobulinas. En este proceso se pueden llegar a tener hasta  $10^{18}$  combinaciones.

**Figura 1.** Proceso de reordenamiento del gen del receptor de antígeno

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar los segmentos reordenados de la región variable (V), de diversidad (D) y de unión (J) de los genes de las inmunoglobulinas (Ig) y del receptor de células T (TCR) permite discriminar, en general, si una población celular corresponde a un proceso reactivo (policlonal) o es una neoplasia maligna (monoclonal) (8). En la mayoría de los casos, los linfomas de células B evidencian reordenamientos de las Ig, mientras que los linfomas de precursores de células T reflejan rearrreglos en el TCR (9). Sin embargo, hay excepciones a la correlación entre la malignidad y el reordenamiento clonal o clonalidad de estos genes; por ejemplo, gracias al proceso de recombinación somática, algunos linfomas maduros del centro germinal pueden mostrar reordenamientos policlonales. De igual manera, algunas lesiones reactivas, especialmente las de origen autoinmune, pueden presentar reordenamientos clonales (10).

Hasta el 2003, el análisis de estos reordenamientos se hacía mediante *Southern blot*, método que requería grandes cantidades de ADN (11). Posteriormente, se desarrollaron protocolos basados en la PCR que buscaban aumentar la sensibilidad de la prueba, pero se obtenían falsos negativos (12,13). En ese mismo año, se conformó un consorcio europeo de laboratorios denominado BIOMED-2 (actualmente EuroClonality), el cual estandarizó los protocolos para detectar la clonalidad tanto de Ig como de TCR mediante PCR multiplex (14).

Los protocolos permitieron obtener mayor sensibilidad, especificidad y reproducibilidad para detectar el reordenamiento clonal en neoplasias linfoides (15-17). Además, se elaboraron guías para la correcta interpretación que también dan cuenta de posibles inconvenientes (18). Esta metodología se ha convertido en el estándar para determinar la clonalidad linfoide (6) y es la base de los protocolos de biología molecular para evaluar la enfermedad mínima residual linfoide propuestos por el consorcio europeo EuroMRD (19).

Los laboratorios del mundo han adaptado la técnica a diferentes tipos de tejido, entre ellos, biopsias decalcificadas de médula ósea (20), tejidos fijados en formalina y embebidos en parafina (FFEP), biopsias de piel (21) y biopsias por aspiración con aguja fina (22). Los resultados han sido variables y, según las conclusiones de los estudios, lo ideal es utilizar tejido fresco. Las enfermedades en las cuales se ha usado la prueba de clonalidad incluyen la leucemia linfoblástica aguda de precursores B (23), el linfoma Hodgkin clásico (24), el linfoma folicular (25), las linfoproliferaciones cutáneas (26), los linfomas anaplásicos de células T (27) y las micosis fungoides (28), entre otras.

El objetivo del presente estudio fue describir el comportamiento de los reordenamientos del receptor de antígeno en una serie consecutiva de proliferaciones linfoides de difícil clasificación, en pacientes del Instituto Nacional de Cancerología en Bogotá, mediante una adaptación local de los protocolos BIOMED-2.

## **Materiales y métodos**

### ***Obtención de los datos***

Se analizaron todos los casos consecutivos de proliferaciones linfoides atípicas para las cuales se solicitó el estudio de reordenamientos del receptor de antígeno, entre febrero de 2015 y junio de 2019. Se examinaron las historias clínicas y se elaboró una base de datos con los datos clínicos, histológicos e inmunohistoquímicos. En la base de datos de laboratorio, se

examinaron las características de las muestras recibidas para estudio, la calidad y concentración de ADN, y los resultados de clonalidad.

### **Indicaciones para el estudio de clonalidad linfoide**

La prueba se hacía por solicitud de los hematooncólogos, dermatólogos oncólogos y patólogos, en aquellos casos en que no había sido posible llegar a un consenso acerca del potencial maligno de la proliferación linfoide con base en los estudios de morfología, inmunohistoquímica, genética y citometría de flujo.

### **Preparación de los tejidos**

*Médula ósea y sangre.* La separación de leucocitos se hizo por gradiente de densidad utilizando el Histopaque 1077™ (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA).

*Tejido fresco.* El tejido se embebió en resina de congelación *Tissue Freezing Medium* (Leica biosystems, Wetzlar, Alemania), se congeló y se hicieron cortes representativos de un grosor de 3 µm para luego utilizar la coloración de rutina y evaluar el porcentaje de células problemáticas y su distribución.

*Tejido fijado en formalina y embebido en parafina.* Se evaluaron las láminas de hematoxilina y eosina de cada caso y se seleccionaron aquellas con más del 10 % de población linfoide problemática; cuando este porcentaje era menor, se sugería tomar una nueva biopsia y procesarla en fresco.

### **Extracción de ADN**

En los tejidos fijados en formalina y embebidos en parafina, se hicieron cuatro cortes de 10 µm del bloque y se colocaron en un tubo Eppendorf de 1,5 ml; la desparafinación se hizo con 1 ml de xileno y 1 ml de etanol, repitiendo dos veces cada paso. Las células separadas por gradiente de densidad, el tejido fresco y el recién desparafinado, se dejaron en digestión en proteinasa K con una solución tampón de incubación (SDS al 2 %, 250 mM de NaCl, 1 mM de EDTA, 1 mM de Tris) durante 48 horas a 56 °C y, luego, se adicionaron perclorato de sodio (3M) y cloroformo y alcohol isoamílico en proporción de 24:1 (Sigma Aldrich, San Luis, Misuri, Estados Unidos); se mezcló homogéneamente y se centrifugó.

A la fase acuosa se le adicionó una sal fuerte (NaCl 3M) y etanol para precipitar el ADN y se mantuvo a 4 °C durante una hora; después, se centrifugó y el precipitado se lavó con etanol al 100 % y al 70 % para, finalmente, diluir el ADN en solución tampón de dilución (Tris 10 mM, EDTA 1 mM).

### **Selección de blancos**

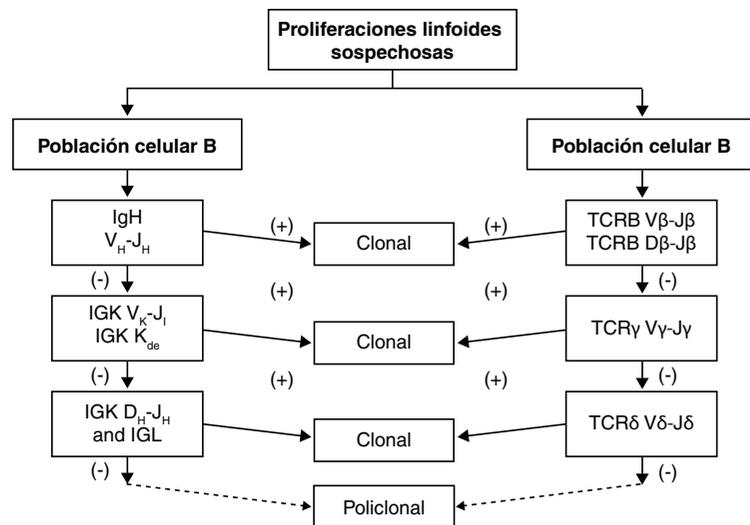
Según el consorcio Biomed-2/EuroClonality, los tejidos en parafina se deben evaluar teniendo en cuenta la calidad del tejido, lo que permite evitar falsos negativos o errores en la amplificación. Además, los protocolos deben estandarizarse según los medios de cada centro diagnóstico. Como la prueba es costosa para los estándares nacionales y no está contemplada en el Plan Obligatorio de Salud, cada vez que se solicita debe tenerse en cuenta la pregunta clínica y la premura con la cual el médico tratante requiere los resultados. Por ello, deben elegirse con precisión los grupos de genes que se van a utilizar y los tamaños esperados.

### Reacción en cadena de la polimerasa

El ADN se cuantificó en el equipo Nanodrop 2000c™ (Thermo-Fisher, Waltham, Massachusetts, USA), utilizando una concentración final de 20 ng/ul. La PCR múltiplex se ajustó a los protocolos diseñados en el consorcio BIOMED-2 (29), utilizando el IdentiClone IGH + IGK & TCRB + TCRG Gene Clonality Assay™ (Invivoscribe, San Diego, California, USA). La calidad de los tejidos en parafina se evaluó utilizando la PCR de control incluida en el mismo estuche. Se asumió que todos los tejidos en fresco eran de óptima calidad. Todas las PCR para amplificar el TCR y las inmunoglobulinas, se hicieron por duplicado y los productos se analizaron por electroforesis en gel de acrilamida o por análisis de fragmentos en secuenciador capilar según las recomendaciones del consorcio EuroClonality/Biomed-2 (figura 2) y la disponibilidad (14).

### Electroforesis en gel de acrilamida

Para favorecer la formación de heterodupletas, primero se usó el calentamiento y luego un choque térmico a 0 °C para después hacer la migración en geles TBE Novex™ al 6 % (Life Technologies, Invitrogen, Grand Island, NY, USA), utilizando la solución tampón de corrido BlueJuice Gel Loading Buffer™ (10X) (Thermo-Fisher, Waltham, Massachusetts, Estados Unidos) en una relación de 1:3 con el producto de PCR. En cada montaje se utilizó como referente el marcador de peso VC 100 bp Plus DNA Ladder™ (Vivantis, Selangor Darul Ehsan, Malaysia). El corrido se realizó en una cámara de electroforesis XCell SureLock Mini-Cell Electrophoresis System™ (ThermoFisher, Waltham, Massachusetts, Estados Unidos), a 110 v constantes durante 80 minutos y se reveló sumergiendo los geles en bromuro de etidio diluido (0,5 µg/1 ml) en agua destilada durante 10 minutos y, posteriormente, en agua de grado de biología molecular dos veces durante 10 minutos cada vez. Los geles se revelaron en el equipo Gel Doc XR+ Gel Documentation System™ (Bio Rad, Hercules, California, USA) y se tomó registro fotográfico de cada uno.



Los reordenamientos se evalúan de acuerdo con el origen celular de la lesión. Si los resultados son positivos, la muestra se clasifica como clonal. En caso contrario, se utilizan los siguientes reordenamientos sugeridos por flechas consecutivas, como se muestra en la figura. Si ningún resultado es positivo, la muestra se considera policlonal.

**Figura 2.** Algoritmo propuesto y utilizado para el estudio de clonalidad en lesiones linfoides

### **Análisis de fragmentos**

Como ya se mencionó, se formaron heterodupletas por calentamiento y luego se estabilizaron con un choque término a 0°C. Se hizo un duplicado de cada prueba de PCR y se visualizó en un analizador genético ABI PRISM 310™.

Se mezclaron 15 µl de Hi-Di Formamide™ (Applied Biosystems, Hampton, New Hampshire, USA), 0,4 µl de GeneScan 500 ROX Dye Size Standard™ (Applied Biosystems, Hampton, New Hampshire, USA) y 1 µl del producto de la PCR de cada muestra.

El corrido estándar con POP-6 POP-6 Polymer™ (Applied Biosystems, Hampton, New Hampshire, USA) se hizo en un capilar de 47 cm. Cada muestra se corrió durante 50 minutos para evitar errores en la lectura, y cada blanco se analizó individualmente comparándolo con el control clonal y el policlonal.

### **Interpretación de los resultados**

Los resultados fueron examinados independientemente por el biólogo molecular y el médico patólogo. Todas las muestras que presentaron una banda o pico definido en el rango establecido para cada tubo, se consideraron como clonales para ese blanco; las muestras que no mostraban un producto específico, en las que solo se veía un barrido de ADN o una distribución de tipo campana de Gauss, se consideraron policlonales. Cuando las bandas eran inespecíficas o no concluyentes, se repetían la PCR y la electroforesis bajo las mismas condiciones. Cada caso se interpretó con base en los hallazgos clínicos y anatomopatológicos, y se reportó siguiendo las recomendaciones de Langerak, *et al.* (6).

## **Resultados**

### **Pacientes y muestras**

Se evaluaron 122 pacientes, 58 de ellos mujeres con edades entre los 12 y los 90 años (52,25%) y 64 hombres, entre los 7 y los 94 años (52,09 %). De algunos se obtuvieron varias muestras de tejidos diferentes. Se evaluaron 142 muestras; de una de estas no fue posible obtener suficiente ADN y, en otras, no se obtuvo el ADN y tampoco se pudo tomar una nueva muestra (0,7 %), por lo que se procesaron 131 muestras en total.

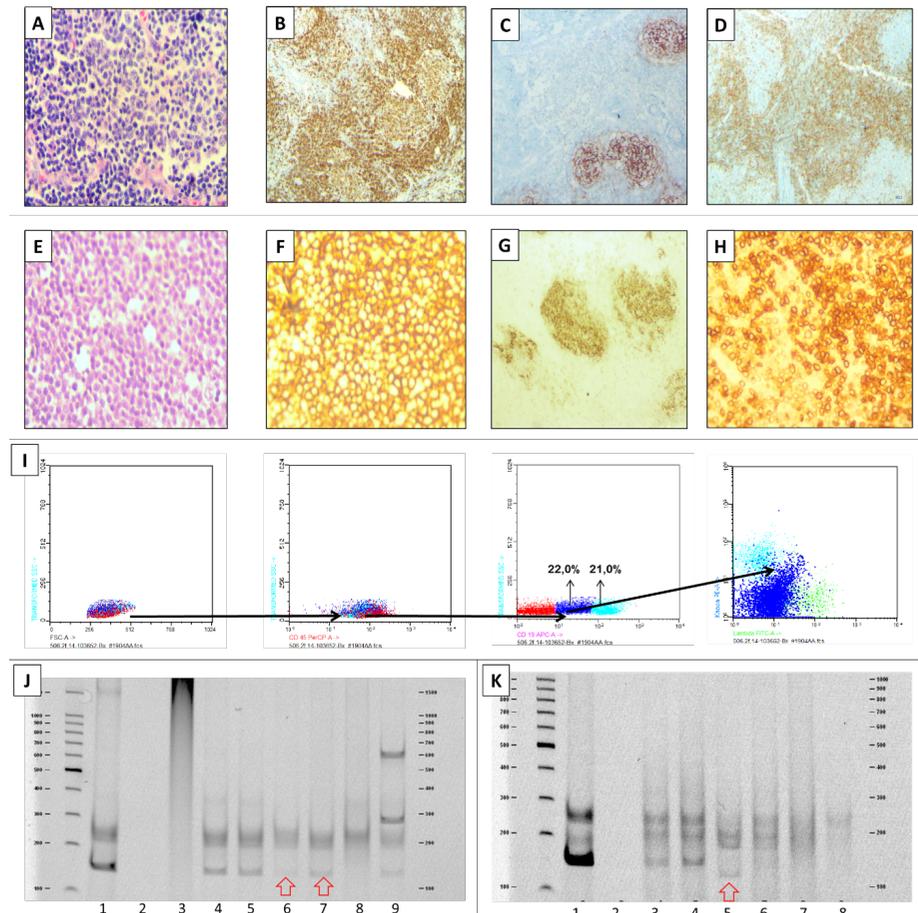
### **La prueba permitió el uso de cualquier tipo de tejido.**

Se utilizaron todos los tipos de tejido, pero principalmente, los fijados en formalina y embebidos en parafina (n=81; 61,83 %). También, se procesaron tejidos no parafinados de biopsias de piel en solución salina (n=31; 23,66 %), de sangre periférica (n=11; 8,39 %), de aspirado de líquido de médula ósea (n=5; 3,81 %), de ganglio en solución salina (n=2; 1,52 %) y de hueso (n=1; 0,76 %). Los tejidos fijados en formalina y embebidos en parafina que se utilizaron tenían menos de un año de procesados; en promedio, se obtuvieron 152,6 ng/µl de ADN con 1,81 de pureza, en tanto que, de los tejidos no parafinados, se obtuvieron 294,2 ng/µl de ADN con 1,93 de pureza. El ADN extraído de los tejidos en parafina amplificó por lo menos 300 pb en la PCR de control desarrollada con el mismo protocolo de BIOMED-2, es decir, con una calidad que permitió evaluar la mayoría de los reordenamientos sin error de falsos negativos.

**La prueba de clonalidad permitió establecer el diagnóstico patológico.**

El diagnóstico final de los casos después de que los médicos tratantes y los patólogos conocieran el resultado de los reordenamientos, correspondió a 19 proliferaciones de células B (12,5 %), 62 proliferaciones de células T (43,75 %), tres proliferaciones de linaje incierto (2,68 %) y 47 hiperplasias reactivas (35,87 %). De las 47 hiperplasias reactivas, 46 fueron linfoides (95,8 %) y una correspondió a prurigo (4,2 %). En tres casos analizados para confirmar las proliferaciones de células T, se vieron reordenamientos pseudoclonales y, en algunas hiperplasias linfoides reactivas, se observó una distribución irregular de los picos en el análisis de fragmentos, problema que se solucionó analizando más de los reordenamientos disponibles para lograr un análisis concluyente.

Según la pregunta clínica y la calidad del ADN, se eligieron los reordenamientos que podrían contribuir al diagnóstico. En el caso que se presenta en la figura 3, una paciente con antecedente de linfoma cutáneo presentó linfadenopatías y, mediante el análisis de reordenamientos en la piel y el ganglio linfático, se resolvió la duda clínica de si se trataba de la misma proliferación linfocítica o de otra completamente diferente (figura 3).

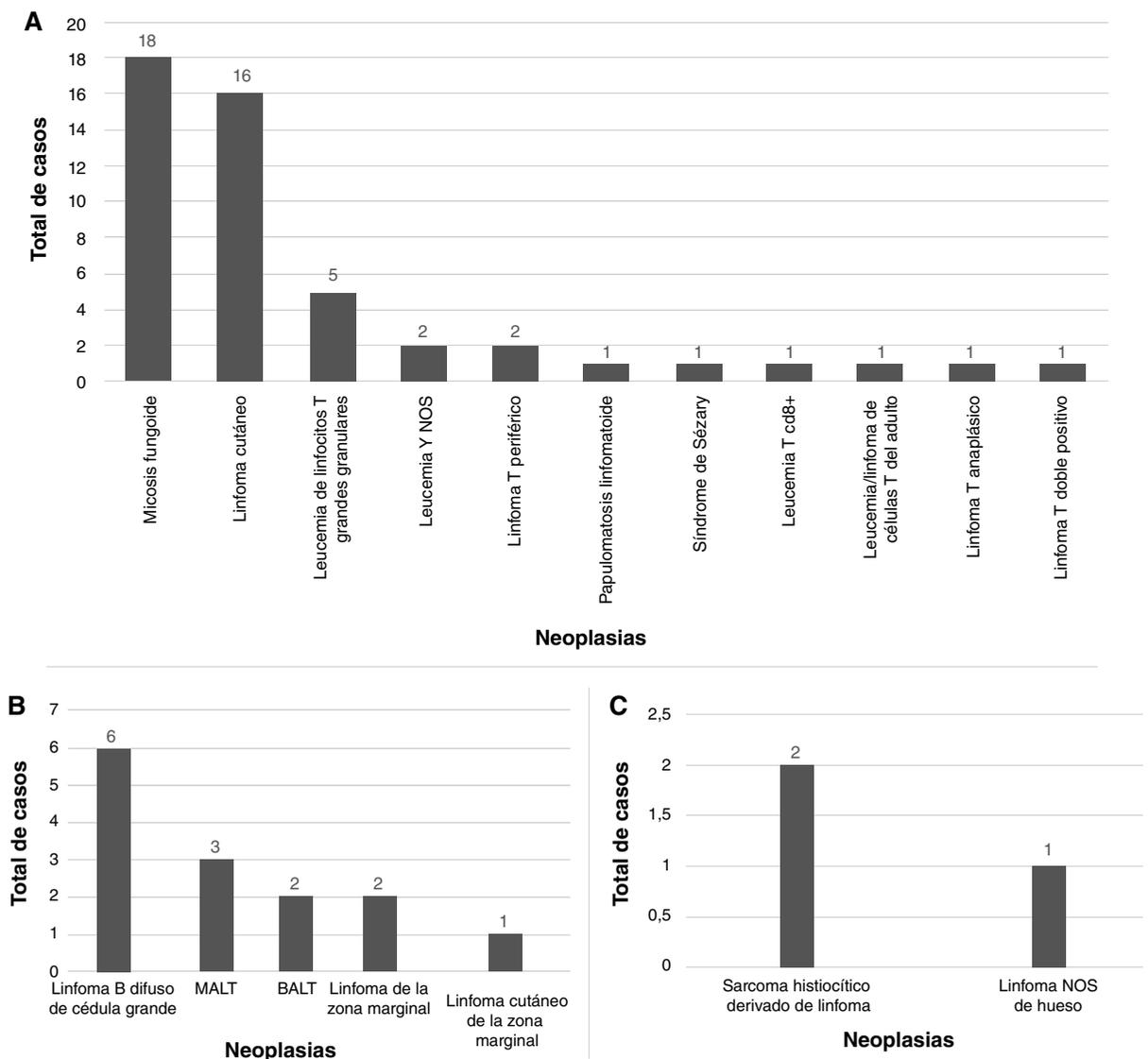


Mujer de 69 años con lesiones en ganglio linfático e infiltrado en la piel. El equipo clínico quería determinar si eran lesiones de diferente origen. A. Lesión de piel, hematoxilina y eosina 400X. B. CD79a, 100X. C. CD23, 100X. D. BCL2, 100X. E. Biopsia de ganglio linfático, hematoxilina y eosina 400X. F. CD25, 100X. G. CD23, 100X. H. BCL2, 100X. I. Citometría de flujo que revela una población celular irregular. J. Electroforesis en gel de poliacrilamida para los reordenamientos de IgK, carril 1, control positivo; 2, control negativo; 3, control policlonal; carril 6: biopsia de piel (clonal); carril 7: biopsia de ganglio linfático (clonal). K. Reordenamientos de la región FR3 de IgH; carril 1, control positivo; 2, control negativo; 3, control policlonal; carril 5: biopsia de piel (clonal); carril 6: biopsia de ganglio linfático (policlonal)

**Figura 3.** Caso representativo del diagnóstico multidisciplinario en casos de clonalidad

**Clonalidad en proliferaciones de células B.** Se diagnosticaron 19 linfomas de células B, 6 de alto grado (linfomas B difusos de células grandes) y 13 de bajo grado (asociados con cualquier tejido, los primarios cutáneos de la zona marginal, los de la zona marginal, la alteración linfoproliferativa asociada con inmunodeficiencia primaria de tipo polimorfo con rearreglo clonal de IGH, el linfoma no Hodgkin primario del sistema nervioso central asociado con inmunodeficiencia y la leucemia B NOS (*Not Otherwise Specified*) (figura 4B).

En los linfomas asociados con cualquier tejido (BALT y MALT), se analizaron los reordenamientos de las cadenas pesadas de las Ig y se observó que IgH VH – FR2 – JH se reordenó en todos los cinco casos analizados, en tanto que VH – FR1 – JH solo se reordenó en tres y, VH – FR3 – JH, en cuatro. Solamente en uno de los casos analizados, se reordenó IgK. Además, en este último caso, también se reordenó TCRβ Vβ – Jβ 2 (figura 5).



A. Proliferaciones de linfocitos T. B. Proliferaciones de linfocitos B. Proliferaciones analizadas entre el 2015 y el 2019. A. Proliferaciones de linfocitos T. B. Proliferaciones de linfocitos B. C. Proliferaciones de origen celular indeterminado. . MALT: *Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*. BALT: *Bronchus Associated Lymphoid Tissue*

**Figura 4.** Número total de neoplasias diagnosticadas con la prueba de clonalidad, 2015-2019

**A. Proliferaciones B**

Dx Final	Sexo	Edad	Tejido	IgH Vh:FR1 - Jh	IgH Vh:FR2 - Jh	IgH Vh:FR3 - Jh	Igk Vk - Jk	Igk Vκ:intron - Kde	TCRβ Vβ - Jβ ½	TCRβ Vβ - Jβ 2	TCRβ Dβ - Jβ	TCRγ Vγ 1 - 8, Vγ10 + Jγ	TCRγ Vγ 9, Vγ11 + Jγ
Linfoma B difuso de célula grande	M	78	Tejido FFEP										
	F	51	Tejido FFEP										
	F	35	Tejido FFEP										
	F	58	Tejido FFEP										
	M	69	Tejido FFEP										
	M	86	Tejido FFEP										
ALT	F	36	Tejido FFEP										
	M	59	Tejido FFEP										
	F	54	Tejido FFEP										
	F	77	Tejido FFEP										
	M	72	Tejido FFEP										
	F	60	Tejido FFEP										
Linfoma primario cutáneo de la zona marginal	M	51	Tejido FFEP										
	F	79	Tejido FFEP										
Linfoma de la zona marginal	F	68	Aspirado líquido de Médula Osea										
Leucemia NOS	F	81	Tejido FFEP										
	M	79	Aspirado líquido de Médula Osea										
Linfoma Asociado a IDP (1)	F	21	Tejido FFEP										
Linfoma Asociado a IDP (2)	M	76	Tejido FFEP										

Dx Final	Sexo	Edad	Tejido	IgH V $\alpha$ -FR1 - J $\alpha$ -	IgH V $\alpha$ -FR2 - J $\alpha$ -	IgH V $\alpha$ -FR3 - J $\alpha$ -	Ig $\kappa$ V $\kappa$ - J $\kappa$	Ig $\kappa$ V $\kappa$ /intron - Kde	TCR $\beta$ V $\beta$ - J $\beta$ 1/2	TCR $\beta$ V $\beta$ - J $\beta$ 2	TCR $\beta$ .D $\beta$ - J $\beta$	TCR $\gamma$ V $\gamma$ 1 - 8, V $\gamma$ 10 + J $\gamma$	TCR $\gamma$ V $\gamma$ 9, V $\gamma$ 11 + J $\gamma$	
Micosis Fungoide	F	48	Tejido FFEP											
	F	55	Tejido FFEP											
	F	43	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	M	50	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	F	63	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	M	24	Tejido FFEP											
	M	9	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	F	12	Tejido FFEP											
	M	10	Tejido FFEP											
	M	62	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	F	37	Tejido FFEP											
	M	61	Tejido FFEP											
	M	29	Tejido FFEP											
	M	71	Tejido FFEP											
	M	15	Tejido FFEP											
	F	63	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	M	53	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	M	53	Sangre Periférica											
	F	45	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	M	63	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	F	35	Sangre Periférica											
	F	74	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	M	35	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
	F	40	Tejido FFEP											
	F	90	Tejido FFEP											
	Linfoma cutáneo de células T	M	59	Tejido FFEP										
		M	86	Tejido Fresco en NaCl (Piel)										
		F	36	Tejido Fresco en NaCl (Piel)										
F		74	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
F		57	Tejido FFEP											
F		38	Tejido FFEP											
F		66	Tejido FFEP											
F		54	Tejido FFEP											
F		67	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
F		28	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
M		7	Tejido FFEP											
F		12	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
F		27	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											
M		11	Tejido Fresco en NaCl (Piel)											

**B. (continuación)**

Dx Final	Sexo	Edad	Tejido	IgH Vh FR1 – Jh	IgH Vh FR2 – Jh	IgH Vh FR3 – Jh	Igk Vk – Jk	Igk Vki/intron – Kde	TCRβ Vβ – Jβ ½	TCRβ Vβ – Jβ 2	TCRβ Dβ – Jβ	TCRγ Vy 1 – 8, Vy10 + Jy	TCRγ Vy 9, Vy11 + Jy
Linfoma Cutáneo NOS	M	19	Tejido Fresco en NaCl (Piel)						Red	Blue		Red	Red
	M	56	Tejido Fresco en NaCl (Piel)						Blue			Red	Red
	M	94	Tejido FFEP						Red	Orange		Blue	Blue
	F	45	Tejido Fresco en NaCl (Piel)						Blue	Red		Red	Red
	F	45	Sangre Periférica						Red			Blue	Blue
Leucemia de linfocitos T grandes granulares	M	58	Sangre Periférica						Red	Blue		Red	Blue
	M	56	Sangre Periférica						Blue		Red	Red	Blue
	F	65	Tejido FFEP			Blue			Blue	Red	Blue	Blue	Red
	M	53	Aspirado líquido de Médula Osea						Blue			Red	Blue
	F	59	Sangre Periférica						Blue			Red	Red
Linfoma T periférico	F	51	Tejido FFEP			Blue	Blue		Red	Red		Red	Blue
	M	74	Tejido FFEP			Blue	Blue		Red			Blue	Blue
Síndrome de Sezary	M	88	Tejido Fresco en NaCl (Piel)						Red	Red		Red	Blue
	M	88	Sangre Periférica						Red	Red		Red	Blue
	M	72	Tejido FFEP						Red	Red	Blue	Red	Blue
Linfoma T anaplásico	M	30	Tejido FFEP			Blue	Blue		Red	Red		Blue	
Linfoma T doble positivo	F	69	Tejido FFEP						Red	Red		Blue	
papulomatosis linfomatoide	M	43	Tejido FFEP						Blue	Blue		Red	
Leucemia T NOS	M	75	Sangre Periférica						Blue	Blue		Red	Blue
	F	82	Tejido Fresco en NaCl (Ganglio)						Red	Orange		Blue	Orange
	M	27	Sangre Periférica						Blue			Red	Blue
leucemia T CD8+	M	69	Aspirado líquido de Médula Osea						Red	Red	Blue	Red	
Leucemia/Linfoma de células T del adulto	F	58	Aspirado líquido de Médula Osea						Blue	Blue		Red	

**C. Neoplasias indeterminadas**

Dx Final	Sexo	Edad	Tejido	IgH Vh FR1 – Jh	IgH Vh FR2 – Jh	IgH Vh FR3 – Jh	Igk Vk – Jk	Igk Vki/intron – Kde	TCRβ Vβ – Jβ ½	TCRβ Vβ – Jβ 2	TCRβ Dβ – Jβ	TCRγ Vy 1 – 8, Vy10 + Jy	TCRγ Vy 9, Vy11 + Jy
Sarcoma histiocítico derivado de linfoma	M	43	Tejido Fresco en NaCl (Ganglio)	Blue	Blue		Red		Red				
	M	11	Tejido FFEP			Blue	Blue				Blue	Blue	Blue
Linfoma NOS en hueso	M	49	Tejido Fresco en NaCl (Hueso)				Red	Blue				Red	Blue

Reordenamientos del receptor de antígeno para cada una de las proliferaciones analizadas. La columna correspondiente a "linfoma asociado a IDP" (1) correspondió a una alteración linfoproliferativa asociada con inmunodeficiencia primaria, con rearreglo clonal de IGH y la llamada " linfoma asociado con IDP" (2): linfoma no Hodgkin primario del sistema nervioso central asociado con inmunodeficiencia primaria.

**Figura 5.** Distribución de los reordenamientos del receptor de antígeno en cada una de las proliferaciones analizadas

En un linfoma de la zona marginal y en uno cutáneo de la zona marginal, se analizaron los reordenamientos de TCRβ Vβ – Jβ ½ & 2, los cuales fueron clonales. El linfoma de la zona marginal, la leucemia B NOS y los linfomas asociados con alguna inmunodeficiencia primaria, mostraron reordenamientos, por lo menos, en una región de IgH.

La distribución de los reordenamientos clonales de las inmunoglobulinas para las neoplasias de células B, fue la siguiente: 40 % para IgH VH FR1 – JH (4/10), 92 % para IgH VH FR2 – JH (11/12), 70 % para IgH VH FR3 – JH (12/17), 64 % para Igκ Vκ – Jκ (9/14) y 22 % para Igκ Vκ/intron – Kde (2/9). En el caso de los reordenamientos de TCR, los resultados fueron de 50 % para TCRβ Vβ – Jβ ½ (2/4), 50 % para TCRβ Vβ – Jβ 2 (4/5), 25 % para TCRβ Dβ – Jβ (1/4), 0 % para TCRγ Vγ 1 – 8, Vγ10 + Jγ (0/10) y 0 % para TCRγ Vγ 9, Vγ11 + Jγ (0/9) (figura 3).

*Clonalidad en proliferaciones de células T.* Se analizaron 63 linfomas de células T, de los cuales 44 correspondieron a linfomas cutáneos (micosis fungoides, linfomas cutáneos de células T y linfomas cutáneos NOS) y 18 a linfomas de otro origen (leucemia de linfocitos T grandes granulares, linfoma T periférico, síndrome de Sézary, linfoma T anaplásico, linfoma T doble positivo, papulomatosis linfomatoide, leucemia T NOS, leucemia T CD8+ y leucemia/linfoma de células T del adulto) (figura 4B).

De los linfomas cutáneos se analizaron 25 micosis fungoide, 14 linfomas cutáneos de células T y 5 linfomas cutáneos NOS. En total, los reordenamientos en los linfomas se distribuyeron así: 54 % (21/44) para TCRγ Vγ 1 – 8, Vγ10 + Jγ, 47 % (18/38) para TCRβ Vβ – Jβ 2, 44 % (16/36) para TCRβ Vβ – Jβ ½, 40 % (17/42) para TCRγ Vγ 9, Vγ11 + Jγ y 12 % (3/25) TCRβ Dβ – Jβ. Además, hubo reordenamientos en el 33 % (3/9) para IgH VH FR3 – JH, el 28 % (2/7) para IgH VH FR2 – JH, el 14 % (1/7) para IgH VH FR1 – JH, y no se observaron reordenamientos de Igκ en ninguna de estas neoplasias (figura 5).

En los linfomas no cutáneos hubo reordenamientos para TCRγ Vγ 1 – 8, Vγ10 + Jγ en 83 % (15/18), para TCRβ Vβ – Jβ 2 en 55 % (10/18), para TCRβ Vβ – Jβ ½ en 46 % (7/15), para TCRγ Vγ 9, Vγ11 + Jγ en 37 % (6/16) y para TCRβ Dβ – Jβ en 18 % (2/11). No se evidenció ningún reordenamiento para Ig (figura 5).

Los reordenamientos clonales del TCR para las neoplasias T se distribuyeron así: 44 % (23/52) para TCRβ Vβ – Jβ ½, 50 % (28/56) para TCRβ Vβ – Jβ 2, 13 % (5/36) para TCRβ Dβ – Jβ, 58 % (36/62) para TCRγ Vγ 1 – 8, Vγ10 + Jγ y 39 % (23/58) para TCRγ Vγ 9, Vγ11 + Jγ. En el caso de los reordenamientos de Ig, fueron: 14 % (1/7) para IgH VH FR1 – JH, 28 % (2/7) para IgH VH FR2 – JH, 23 % para IgH VH FR3 – JH (3/13), ninguno (0/9) para Igκ Vκ – Jκ y ninguno (0/4) para Igκ Vκ/intron – Kde (figura 5).

*Clonalidad en proliferaciones de linajes indeterminados.* Las proliferaciones indeterminadas correspondieron a dos sarcomas histiocíticos derivados de linfoma (uno sin ningún reordenamiento y otro con el de Igκ Vκ – Jκ y TCRβ Vβ – Jβ ½) y a un sarcoma NOS de hueso (con reordenamiento de Igκ Vκ – Jκ y de TCRγ Vγ 1 – 8, Vγ10 + Jγ).

## Discusión

Esta es la primera experiencia en Colombia en el uso de reordenamientos del receptor de antígeno para determinar la clonalidad linfóide. Se describe una serie consecutiva de proliferaciones linfoides de diagnóstico difícil, en la cual se utilizaron los protocolos BIOMED-2 para evaluar los reordenamientos que ocurren en las cadenas pesadas y ligeras de las inmunoglobulinas, y en las cadenas beta y gamma del receptor de células T.

Los protocolos BIOMED-2 utilizados en el estudio se consideran actualmente la prueba de referencia para establecer si una proliferación es clonal, pues superan la inmunofenotipificación (30). Aunque este análisis es posible por secuenciación de nueva generación, está todavía se encuentra en validación, por lo cual el protocolo de mayor utilización en el mundo sigue siendo el de la PCR múltiplex.

La adaptación de la prueba es sólida y permite utilizar todo tipo de tejidos; fue especialmente exitosa con los parafinados, de los cuales se desconocen muchas veces las condiciones preanalíticas por ser el Instituto Nacional de Cancerología un centro de referencia nacional. Atribuimos los buenos resultados a nuestro protocolo para la extracción orgánica de ADN.

Los resultados mostraron que los linfomas cutáneos y los linfomas B difusos de células grandes son las proliferaciones linfoides que los patólogos consideran más difíciles de diagnosticar y clasificar. En general, los reordenamientos obtenidos para cada lesión son los esperados según la literatura especializada (27,31,32).

Un hallazgo interesante fue la presencia de reordenamientos del TCR en linfomas B difusos de células grandes, en los de la zona marginal y en los sarcomas histiocíticos, lo que se explicaría por dos razones principales: los linfocitos acompañantes del microambiente tumoral son clones de linfocitos T o las características aberrantes de las células tumorales permiten el reordenamiento de los genes del TCR sin necesidad de expresarlos (27,33). Se requieren nuevos estudios para aclarar estos mecanismos. Por esta razón, cuando se considere utilizar la prueba para determinar el linaje, siempre deben interpretarse sus resultados con precaución.

Las pruebas para evaluar reordenamientos en linfoproliferaciones sospechosas desarrolladas por el consorcio BIOMED-2/EuroClonality, son sólidas y permiten el análisis diagnóstico de casos difíciles en la mayoría de los casos y en varios tipos de tejido, incluidos los parafinados y los de hueso. Esto es importante en nuestro medio, donde no se controlan con precisión las condiciones preanalíticas.

Los análisis de reordenamientos fueron útiles para el diagnóstico, pero no para establecer el linaje de la población celular problema, pues se encontró que los reordenamientos del TCR pueden aparecer en proliferaciones linfoides B y, los de inmunoglobulinas, en proliferaciones linfoides de células T. Es necesario el análisis multidisciplinario caso por caso, con el fin de optimizar el uso de reactivos y responder adecuadamente a cada una de las necesidades clínicas.

### **Agradecimientos**

Al Grupo de Patología, al Laboratorio de Patología Molecular, al Grupo de Hemato-oncología del Instituto Nacional de Cancerología y, de forma especial, al Consorcio Europeo BIOMED-2, por su acompañamiento y asesoramiento en algunos casos.

### **Referencias**

1. Instituto Nacional de Cancerología. Anuario estadístico 2010. 1ª edición. Bogotá: Buenos y creativos S.A.S.; 2012.
2. Basso K, Dalla-Favera R. Germinal centres and B cell lymphomagenesis. *Nat Rev Immunol.* 2015;15:172-84. <https://doi.org/10.1038/nri3814>

3. Instituto Nacional de Cancerología. Anuario Estadístico 2015. 1ª edición. Bogotá: Buenos y creativos S.A.S.; 2018.
4. Sandberg Y, van Gastel-Mol EJ, Verhaaf B, Lam KH, van Dongen JJM, Langerak AW, *et al.* BIOMED-2 multiplex immunoglobulin/T-cell receptor polymerase chain reaction protocols can reliably replace southern blot analysis in routine clonality diagnostics. *J Mol Diagnostics.* 2005;7:495-503. [https://doi.org/10.1016/S1525-1578\(10\)60580-6](https://doi.org/10.1016/S1525-1578(10)60580-6)
5. Hoeve MA, Krol AD, Philippo K, Derksen PW, Veenendaal RA, Schuurings E, *et al.* Limitations of clonality analysis of B cell proliferations using CDR3 polymerase chain reaction. *Mol Pathol.* 2000;53:194-200. <https://doi.org/10.1136/mp.53.4.194>
6. Langerak AW, Groenen PJ, Brüggemann M, Beldjord K, Bellan C, Bonello L, *et al.* EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia.* 2012;26:2159-71.
7. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology, 8th edition. Amsterdam: Elsevier; 2014. p. 544.
8. Malcolm TIM, Hodson DJ, Macintyre EA, Turner SD. Challenging perspectives on the cellular origins of lymphoma. *Open Biol.* 2016;6:160232. <https://doi.org/10.1098/rsob.160232>
9. Kim Y, Choi YD, Choi C, Nam J-H. Diagnostic utility of a clonality test for lymphoproliferative diseases in Koreans using the BIOMED-2 PCR assay. *Korean J Pathol.* 2013;47:458-65. <https://doi.org/10.4132/KoreanJPathol.2013.47.5.458>
10. Langerak AW, Molina TJ, Lavender FL, Pearson D, Flohr T, Sambade C, *et al.* Polymerase chain reaction-based clonality testing in tissue samples with reactive lymphoproliferations: Usefulness and pitfalls. A report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia.* 2007;21:222-9. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404482>
11. Davey DD, Kamat D, Zaleski S, Goeken J, Dick FR. Analysis of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangement in cytologic specimens. *Acta Cytol.* 1989;33:583-90.
12. Davis TH, Yockey CE, Balk SP. Detection of clonal immunoglobulin gene rearrangements by polymerase chain reaction amplification and single-strand conformational polymorphism analysis. *Am J Pathol.* 1993;142:1841-7.
13. Trainor KJ, Brisco MJ, Wan JH, Neoh S, Grist S, Morley AA. Gene rearrangement in B- and T-lymphoproliferative disease detected by the polymerase chain reaction. *Blood.* 1991;78:192-6.
14. van Dongen JJM, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PAS, Hummel M, Lavender FL, *et al.* Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: Report of the BIOMED-2 concerted action BMH4-CT98-3936. *Leukemia.* 2003;17:2257-317. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403202>
15. Langerak AW, Molina TJ, Lavender FL, Pearson D, Flohr T, Sambade C, *et al.* Polymerase chain reaction-based clonality testing in tissue samples with reactive lymphoproliferations: Usefulness and pitfalls. A report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia.* 2007;21:222-9. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404482>
16. Evans PA, Pott C, Groenen PJ, Salles G, Davi F, Berger F, *et al.* Significantly improved PCR-based clonality testing in B-cell malignancies by use of multiple immunoglobulin gene targets. Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. *Leukemia.* 2007;21:207-14. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404479>
17. Brüggemann M, White H, Gaulard P, García-Sanz R, Gameiro P, Oeschger S, *et al.* Powerful strategy for polymerase chain reaction-based clonality assessment in T-cell malignancies Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4 CT98-3936. *Leukemia.* 2007;21:215-21. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404481>
18. Groenen PJTA, Langerak AW, van Dongen JJM, van Krieken JHJM. Pitfalls in TCR gene clonality testing: Teaching cases. *J Hematop.* 2008;1:97-109. <https://doi.org/10.1007/s12308-008-0013-9>
19. Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S, Béne MC, Buccisano F, Cloos J, *et al.* Minimal/measurable residual disease in AML: A consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood.* 2018;131:1275-91. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-09-801498>
20. Lassmann S, Gerlach U V, Technau-Ihling K, Werner M, Fisch P. Application of BIOMED-2 primers in fixed and decalcified bone marrow biopsies: Analysis of immunoglobulin H receptor rearrangements in B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Mol Diagn.* 2005;7:582-91. [https://doi.org/10.1016/S1525-1578\(10\)60591-0](https://doi.org/10.1016/S1525-1578(10)60591-0)

21. Berget E, Helgeland L, Molven A, Vintermyr OK. Detection of clonality in follicular lymphoma using formalin-fixed, paraffin-embedded tissue samples and BIOMED-2 immunoglobulin primers. *J Clin Pathol*. 2011;64:37-41. <https://doi.org/10.1136/jcp.2010.081109>
22. Zhang S, Abreo F, Lowery-Nordberg M, Veillon DM, Cotelingam JD. The role of fluorescence in situ hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis and classification of lymphoproliferative disorders on fine-needle aspiration. *Cancer Cytopathol*. 2010;118:105-12. <https://doi.org/10.1002/cncy.20070>
23. Dawidowska M, Jólkowska J, Szczepański T, Derwich K, Wachowiak J, Witt M. Implementation of the standard strategy for identification of Ig/TCR targets for minimal residual disease diagnostics in B-cell precursor ALL pediatric patients: Polish experience. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2008;56:409-18. <https://doi.org/10.1007/s00005-008-0045-y>
24. Burack WR, Laughlin TS, Friedberg JW, Spence JM, Rothberg PG. PCR assays detect B-lymphocyte clonality in formalin-fixed, paraffin-embedded specimens of classical Hodgkin lymphoma without microdissection. *Am J Clin Pathol*. 2010;134:104-11. <https://doi.org/10.1309/AJCPK6SBEOXOODHB>
25. Payne K, Wright P, Grant JW, Huang Y, Hamoudi R, Bacon CM, *et al*. BIOMED-2 PCR assays for IGK gene rearrangements are essential for B-cell clonality analysis in follicular lymphoma. *Br J Haematol*. 2011;155:84-92. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08803.x>
26. Sandberg Y, Heule F, Lam K, Lugtenburg PJ, Wolvers-Tettero ILM, van Dongen JJM, *et al*. Molecular immunoglobulin/T-cell receptor clonality analysis in cutaneous lymphoproliferations. Experience with the BIOMED-2 standardized polymerase chain reaction protocol. *Haematologica*. 2003;88:659-70.
27. Tan BT, Seo K, Warnke RA, Arber DA. The frequency of immunoglobulin heavy chain gene and T-cell receptor  $\gamma$ -chain gene rearrangements and Epstein-Barr virus in ALK+ and ALK- anaplastic large cell lymphoma and other peripheral T-cell lymphomas. *J Mol Diagn*. 2008;10:502-12. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2008.080054>
28. Sufficool KE, Lockwood CM, Abel HJ, Hagemann IS, Schumacher JA, Kelley TW, *et al*. T-cell clonality assessment by next-generation sequencing improves detection sensitivity in mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol*. 2015;73:228-236.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.04.030>
29. van Dongen JJM, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PAS, Hummel M, Lavender FL, *et al*. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: Report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003;17:2257-317. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403202>
30. Gazzola A, Mannu C, Rossi M, Laginestra MA, Sapienza MR, Fuligni F, *et al*. The evolution of clonality testing in the diagnosis and monitoring of hematological malignancies. *Ther Adv Hematol*. 2014;5:35-47. <https://doi.org/10.1177/2040620713519729>
31. Kokovic I, Novakovic BJ, Cerkovnik P, Novakovic S. Clonality analysis of lymphoid proliferations using the BIOMED-2 clonality assays: A single institution experience. *Radiol Oncol*. 2014;48:155-62. <https://doi.org/10.2478/raon-2013-007>
32. Rout ED, Burnett RC, Yoshimoto JA, Avery PR, Avery AC. Assessment of immunoglobulin heavy chain, immunoglobulin light chain, and T-cell receptor clonality testing in the diagnosis of feline lymphoid neoplasia. *Vet Clin Pathol*. 2019;48 (Supl.1):45-58. <https://doi.org/10.1111/vcp.12767>
33. Suefuji N, Niino D, Arakawa F, Karube K, Kimura Y, Kiyasu J, *et al*. Clinicopathological analysis of a composite lymphoma containing both T- and B-cell lymphomas. *Pathol Int*. 2012;62:690-8. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.2012.02858.x>

Original article

## Built environment interventions and physical activity levels: A systematic review

Susana Barradas<sup>1,2</sup>, Diego Lucumí<sup>1</sup>, Deivis Nicolás Guzmán-Tordecilla<sup>1</sup>, Jeremy Young<sup>3</sup>, Diana Pinzón<sup>4</sup>

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

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Sociales y Humanas, Universidad Externado de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Departamento de Administración, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Grupo de Salud Ambiental y Laboral, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

**Introduction:** Non-communicable diseases are the leading cause of death worldwide and physical activity is a key preventive strategy to reduce them. There is a relationship between the built environment and the practice of physical activity, but little evidence as to whether those built environment interventions not initially designed for promoting physical activity actually have an impact on promoting the behavior.

**Objective:** To identify whether such built environment interventions were able to change physical activity in adults.

**Materials and methods:** We conducted a systematic review of interventions targeting modifications to the built environment changes in urban areas.

**Results:** Out of 5,605 articles reviewed, only seven met our inclusion criteria. The seven studies found higher levels of physical activity after the interventions.

**Conclusions:** We recommend greater specificity regarding the study design, the timeline of interventions implementation and post-intervention measurements, as well as the use of more objective measures. Finally, we point out the need to make more explicit the mechanisms of change related to the interventions assessed.

**Keywords:** built environment; physical activity; health promotion.

### Intervenciones en el ambiente construido y niveles de actividad física: una revisión sistemática

**Introducción.** Las enfermedades no transmisibles son la principal causa de muerte en todo el mundo y la actividad física es una estrategia preventiva clave para reducirlas. Hay una relación entre el entorno construido y la práctica de actividad física, pero poca evidencia de si las intervenciones no diseñadas en principio para promoverla, realmente tienen un impacto en ese sentido.

**Objetivo.** Determinar si tales intervenciones en el entorno urbano pudieron cambiar la práctica de actividad física en adultos.

**Materiales y métodos.** Se hizo una revisión sistemática de las intervenciones que apuntaban a modificar el entorno construido en zonas urbanas.

**Resultados.** De 5.605 artículos considerados, solo siete cumplieron con nuestros criterios de inclusión y en todos ellos aumentó la actividad física después de la intervención.

**Conclusiones.** Se recomienda que el diseño del estudio, el cronograma de implementación de las intervenciones y las mediciones posteriores sean más específicas, de manera que las medidas obtenidas sean más objetivas. Asimismo, se argumenta la necesidad de hacer más explícitos los mecanismos de cambio relacionados con las intervenciones evaluadas.

**Palabras clave:** entorno construido; actividad física; promoción de la salud.

Currently, non-communicable diseases (NCD) are the leading cause of death in the world, responsible for 38 million of the 56 million deaths recorded in 2012, i.e., 68% of the total deaths worldwide (1). The majority of deaths reported as a cause of NCD occurred in the working-age segment of the population and in low and middle-income countries (1,2). Specifically, the main four groups of diseases responsible for 80% of all NCD-related deaths are cardiovascular diseases, cancers, chronic respiratory diseases, and diabetes (3). For the period 2011 to 2025, it has been estimated that low-and-middle-income countries would have an economic loss of US \$ 7 billion derived from NCD, far exceeding the annual cost of interventions aimed at reducing the prevalence of NCD (US \$ 11.200 million) (1).

**Received:** 15/04/2021

**Accepted:** 22/10/2021

**Published:** 17/11/2021

#### Citation:

Barradas S, Lucumí D, Guzmán-Tordecilla DN, Young J, Pinzón D. Built environment interventions and physical activity levels: A systematic review. *Biomédica*. 2022;42:79-88.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.6113>

#### Corresponding author:

Susana Barradas, Facultad de Ciencias Sociales y Humanas, Universidad Externado de Colombia, Calle 12 No 1-17 Este, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (571) 353 7000, extensión 1514  
susana.barradas@uexternado.edu.co; sc.pataco54@uniandes.edu.co

#### Author contributions:

All authors contributed to the conceptualization of the paper, the methodology decisions, the analysis, and the writing and preparation of the original draft.

#### Funding:

This research received no external funding.

#### Conflicts of interest:

The authors declare no conflict of interest.

The promotion of physical activity (PA) is among the multiple interventions proposed for the reduction of morbidity and mortality of NCD (between 20 and 30%) (1,3-5). According to the World Health Organization (1,2), for countries to increase PA levels in their population and thus have a positive effect on the reduction of morbidity and mortality related to NCD, an inter-sector collaboration strategy is needed including transport, urban planning, recreation, sports, and education sectors.

There is evidence that suggests a relationship between the built environment and health behaviors such as PA (6,7). Specifically, the characteristics of the built environment can promote or inhibit PA (6,7). For example, the aesthetic and security infrastructure of neighborhoods is related to the frequency of physical activities such as walking and cycling (8). Neighborhoods with adequate pedestrian infrastructure, illumination, green spaces, and walls free of graffiti have had positive effects on the practice of PA (9,10). Similarly, it has been shown that recreational and non-recreational facilities (cafes, grocery stores, food stores, schools, and other services) are positively associated with active transportation (9,10). This suggests that even those spaces that have not been specifically built to promote PA have a relationship with its practice.

Although various studies and systematic reviews have demonstrated a strong relationship between built environments and PA (9-11), they do not clearly show whether environments not initially designed for promoting PA actually have an impact on such promotion. The sustainable objective goals adopted by the United Nations in 2016 have also pointed out the importance of sustainable cities and communities. Since the world is increasingly urbanized (today, 3.5 million people live in cities) and it is expected that by 2030 60% of the population will live in urban areas (12), it is essential to understand their role in health. Therefore, clarifying how those environments influence the practice of PA would help to encourage an inter-sector approach to promoting it.

Besides, synthesizing information on whether urban planning interventions whose main goal was not PA promotion, regardless of later measurements of PA variables or proxies, can contribute to consolidating the evidence on built environments and PA. This will also contribute to the body of knowledge related to evidence-based urban development, which can directly or indirectly have an impact on the prevalence of NCD. We checked the systematic review of the Guide to Community Preventive Services (13) and found that it applies only to the EUA. In this context, our goal was to determine whether built environment interventions not initially designed to promote PA were able to change PA or PA proxies in urban areas.

## **Materials and methods**

### ***Search strategy***

This systematic review was conducted according to the PRISMA criteria (14). The search for articles took place in December 2016 in five databases: MEDLINE, Web of Science, EMBASE, ProQuest, and LILACS selected for a greater understanding of the sample and to cover as many articles as possible. Search terms used were: "intervention" OR "natural experiment" AND "physical activity OR exercise OR walking OR cycling" OR "commute mode walking OR cycling" "active commute" OR "mode of travel" OR "proportion of trips" OR "active travel" OR "travel behavior" OR "active transport" OR "connectivity" AND "built environment" OR "built environment interventions"

OR “infrastructure” OR “urban planning” OR “urban interventions” OR “transportation intervention” OR “public transportation” OR “transport infrastructure” OR “urban regeneration” OR “urban revitalization” OR “housing projects” OR “green space” OR “land use” OR “lighting” OR “traffic lights” OR “roads”

### ***Exclusion and inclusion criteria***

The search included only papers on adult populations in English, Spanish, or Portuguese. To track the most recent trends studies, the search was limited to papers published between 2000 and 2016. We chose this period because, after the year 2000, there was increased recognition of the relation between built environment interventions and health behaviors including PA (15). Also, at the beginning of the new century, ecological models shed light on the role of the environment in PA promotion (15,16).

We only included those papers describing interventions not primarily designed to promote PA but measuring at least one outcome related to this behavior before or after the intervention. In this sense, we included those studies related to transportation or built environments designed for and available to the general population. For the purposes of this study, physical activity was defined as any muscular movement requiring energy expenditure of moderate or vigorous intensity including sports, active recreation, play, wheeling, walking, or cycling (17). We included articles with PA self-reported measures (including walking) and we also accepted PA proxies such as commute mode walking, active commute, mode of travel, the proportion of trips, active travel, and travel behavior. Likewise, a built environment was defined as any physical environmental characteristics in a community that could make physical activity easier or more accessible (18).

### ***Selection of studies***

We used three different filters in the selection of studies: the exclusion of duplicated articles; the review of articles and abstracts by four trained researchers with English and Spanish reading skills, one of whom also had Portuguese reading skills, to evaluate the inclusion and exclusion criteria, and the review by pairs of researchers of those articles whose inclusion was previously agreed. Possible discrepancies on whether to include a paper or not were solved by a third reviewer of the team based on the inclusion and exclusion criteria previously established. Figure 1 shows the flow diagram of the search performed in databases.

### ***Data extraction***

Every paper included was then reviewed and categorized following these characteristics: year, language, country/region, type of study, area of knowledge, type of intervention, type of population and participants' age, physical activity and other outcomes, effect estimate of PA, and main results (figure 1).

### ***Results***

The results were organized as follows: First, we present the number of initial records identified in the databases and the final number of articles included in the sample. Second, we identify and describe the study design of the papers reviewed. Third, we describe the type of population or participants in the studies reviewed and the type of PA measures used in each paper, and, finally, the mechanisms underlying the interventions when this information was available.

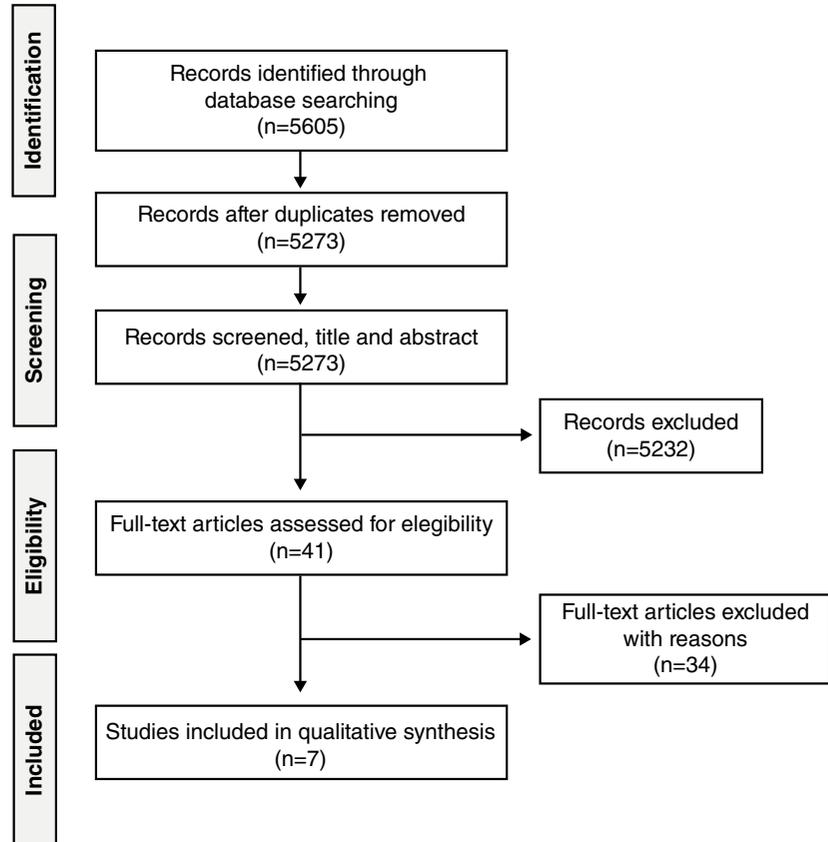


Figure 1. PRISMA flow diagram

### Sampling

A total of 5,605 records were identified through the initial database search. After excluding duplicates, 5,273 records were screened by title and abstract and 5,232 were excluded because they did not meet the inclusion criteria; the remaining 41 articles were assessed for eligibility, and seven were included in the final sample (figure 1).

### Studies design

All the studies identified were on interventions not primarily designed to promote PA as defined in the inclusion criteria. Three of them were presented as natural experiments (19-21), one as a prospective cohort study (22), one as a two-wave study (23), and another one as a quasi-experimental study inside a cohort study (24). One of the studies did not specify the research design used (25) but based on the information provided in the methods section, we assumed that it corresponded to a longitudinal design with pre- and post-intervention assessments (table 1).

### Study population characteristics

The studies included a total of 1,947 participants in the different interventions ranging between 70 and 537 while one of them gathered information from 750 households (22). Regarding population characteristics, two studies recruited employees of a certain area of interest (21,24), three recruited people from a local community (22,23,25), one recruited university students (20), and another one, low-income African American women (19).

**Table 1.** Summary of studies assessing urban interventions' effect on unplanned physical activity outcomes

Citation	Data collected	Study design	Recruitment strategy	Demographics	Intervention	Physical activity outcome
Prins, <i>et al.</i> , 2016	Cambridge, (UK). Data collected between 2009 and 2013	Quasi-experimental (natural experiment)	Recruitment at workplace using a combination of strategies: emails, leaflets, recruitment stands	N = 469 M age = 43.9 (SD=10.8) Female = 66.4% Urbanicity: urban = 65.9%; rural = 34.1%. Education: lower than degree level = 25.4% degree level = 74.6%	Construction of new transport infrastructure that connects towns and villages in the northwest of Cambridge with the Cambridge Science Park, the city center and the Cambridge Biomedical Campus	The new routes increased the use of cycling. Among all the measurements, the increase was of 1.42, 95% CI = 0.86, 1.97).
Morrison, <i>et al.</i> , 2004	Glasgow, (Scotland) Data collected between 2009 and 2013	Quasi-experimental (prospective cohort study)	Postal questionnaire surveys using household addresses from a commercial data company	N = 750 (15 years and older)	The intervention consisted in a traffic calming scheme in the main road of an urban housing estate in Glasgow.	Subjective measure of physical activity showed higher levels in walking and cycling behaviors after intervention; 20% of the participants reported to walk more in the area after the intervention. Also, 3.8% reported to cycle more in the area, 12.5% allow children to walk more, 11.6% allow children to cycle more, and 11.8% of the participants allow children to play out more in the area.
Sun, <i>et al.</i> , 2014	Hong Kong, (China). Data collected between 2012 and 2013	Quasi-experimental (natural experiment)	Email recruitment of students from the university campus	N = 169 M age = 18.7 (SD = 1.2) Female = 55%	A restructuring process was carried out within the campus of the Chinese University of Hong Kong: Changes in land use, pedestrian network, population density, and campus bus services schedules.	Results showed that changes in the built environment led to higher levels of walking physical activity. Changes in exposure to pedestrian network increased walking ( $\beta = 0.895$ ; $p < 0.001$ ). Changes in the use of recreational buildings (located further away) and exposure to increased population density were related to an increase of walking distance ( $\beta = 0.187$ ; $p < 0.001$ ).
Wells, <i>et al.</i> , 2008	Georgia, Alabama, and Florida (US). Data collected between 2003 and 2006	Quasi-experimental (natural experiment)	Women in the beneficiaries' neighborhoods of the Habitat for Humanity program. List of names provided by the local program organization	N = 32 M age = 38 Annual income = 16,425.75 USD Average body mass index = 32.09 kg/m <sup>2</sup> Overweight or obese = 82% Education: High school graduate = 81%	Two neighborhoods were relocated to neotraditional communities and conventional suburban neighborhoods.	After the relocation, the number of steps in neotraditional neighborhoods were higher (62,207 steps/week) when comparing with suburban neighborhoods (58,617 steps/week), but not statistically significant ( $p = 0.6$ ). However, when looking for race differences, African-American women walked less (50,320 steps/week) in comparison with non-African Americans (70,504 steps/week) and this difference was significant ( $p = 0.013$ ). Also, household size predicted higher number of steps per week (5,600 more steps; $p = 0.008$ ).
Hong, <i>et al.</i> , 2016	California (US). Data collected between 2012 and 2013	Quasi-experimental (two-wave study)	Addresses in the area of the study were purchased from a commercial database. Invitation letters were sent to households in the area	N = 73 M age = 38 Male = 39% Race (white: 26%; black: 56%) Education: some years of college = 29%, bachelor = 34% Employment status: not employed = 44%	Construction of a new light rail line	In the second statistical model using total walk trip counts and the interaction term between treatment and baseline MVPA, being in the treatment group was associated with higher levels of moderate to vigorous PA (MVPA) at follow-up ( $\beta = 9.29$ ; $p = 0.06$ ). However, when looking for the intersection between treatment and baseline MVPA, those effects were attenuated ( $\beta = -0.34$ ; $p = 0.06$ ).
Panter, <i>et al.</i> , 2016	Cambridge (UK). Data collected between 2009 and 2012	Quasi-experimental	Recruitment at workplace using a combination of strategies: Newspaper advertisements, posters, flyers by means of corporate email, staff newsletters, recruitment stands	N = 469 M age = 44 (SD = 11.1) Women = 66.5% Education: degree level education: 74.8%; less than degree-level education: 25.2%. Urban-rural status: urban 67.3%; town 17.1%; village 15.6% Weight status: overweight or obese: 33.9%	Opening of a new transport infrastructure "Cambridgeshire Guided Busway"	Positive effect of the exposure to the busway. Greater amount of weekly cycling (relative risk ratio = 1.34; 95% CI = 1.03, 1.76). Also, more time spent in active commuting (relative risk ratio = 1.76; 95% CI = 1.16, 2.67) only for those participants with less active commuting at baseline. Participants living closer to busway showed more cycling and less walking, and as the distance from the busway increased, this relationship was reversed.
Brown, <i>et al.</i> , 2015	Salt Lake, Utah (US) Data collected between 2012 and 2013 (one week before and after the intervention)	Quasi-experimental	Participants were recruited door to door.	N = 537 M age = 41.1 (SD = 0.74) Female = 51% Hispanic = 25% College graduates = 37% Married = 46%	Street intervention to extend a light-rail line	Intervention was associated with PA levels assessed with accelerometers. Former riders showed a decrease in PA levels in comparison with never-riders ( $t = -3.30$ ; $p = 0.001$ ). New users of the light rail line performed more PA in comparison with never-riders ( $t = 2.72$ ; $p = 0.007$ ).

### **Type and focus of interventions**

All the interventions evaluated PA levels associated with changes in the built environment such as transport infrastructure, traffic calming schemes, and street interventions, among others (table 1). Four studies evaluated specifically a transport infrastructure intervention (21,23-25), another one, a traffic-calming scheme (22), and two other studies evaluated built environment characteristics such as land use, pedestrian networks, and street network patterns (19,20).

### **PA and PA proxies measures**

The papers reviewed used different approaches to measure PA (table 1): walking minutes or distance (19,20,22-24), cycling minutes or distance (21,22,24), total minutes per week of total moderate to vigorous PA (hereafter MVPA) (23,25), and total minutes per week of moderate to vigorous recreational PA (24). These measures were obtained either objectively or through self-report. Objective measures of walking were collected through accelerometry (23,25) or pedometer (19). Subjective measures were collected using validated scales (24) in a survey with questions regarding the weekly time dedicated to PA (21,23) or by asking directly for perceived differences in PA levels as a result of the intervention (20,22).

All the measures in the studies reviewed were taken before and after the interventions, though in one of them, the measure was taken right after the intervention. In the other studies, the follow-up measurements were made at different times after the interventions had become effective: three months later (20), five to seven months later (23), and one year later (21). The other studies did not give exact information in this regard (19,21,22,24) and, although they mentioned the range of time over which the data were collected, it was not clear how much time elapsed between the implementation of the intervention and the follow-up.

### **Mechanisms underlying the interventions**

Regarding the underlying mechanism of interventions, we used the Behavioral Change Theory (BCT) as the theoretical, methodological, and analytical foundation to explain changes in PA behavior and proxies. Two studies have made explicit reference to the theories of change, specifically the Theory of Planned Behavior (TPB) (21,23), the Health Belief Model, and the Ecological Model (23). On the other hand, one of the studies measured variables that have been integrated into behavior theories and models (e.g., perceptions and attitudes) still without making any explicit reference to theory (22). The study by Prins, *et al.* (21), applied theory frameworks (26) including an open reference to TPB whose variables were measured and analyzed in conjunction with the results for physical activity and changes in the built environment. In the case of Hong, *et al.* (23), it seems the study was more informed by TBP but they did not apply it sufficiently during the study (26). Regarding the study by Morrison, *et al.* (22), although there's some level of theory application, it failed to account for a specific theory in its theoretical framework.

### **Discussion**

To our knowledge, this is the first systematic review analyzing whether built environment interventions not initially designed to change PA could actually achieve it in urban areas. As systematic reviews in this field are usually interested in interventions designed to impact PA levels, our focus on

interventions not designed to change PA is, we believe, a unique contribution to the literature. A better understanding of how built environments can influence the practice of PA should lead to the use of an inter-sector approach in public health, particularly in the efforts to promote PA in urban areas. As noted above, our synthesis of evidence on these urban planning interventions as affecting PA can contribute to consolidating our knowledge regarding built environments and PA performance in urban areas.

All the studies reviewed found higher levels of PA and PA proxies after the interventions. These results appear to be consistent with other authors' findings regarding the influence of built environments on health behaviors, particularly in PA (6,7,27,28). The results indicate that the kind of interventions conducted in our sample can be particularly useful in increasing walking, cycling, total MVPA, and recreational MVPA in communities.

Three methodological aspects are relevant in our evaluation of the selected studies. First, although the studies reviewed used a quasi-experimental design, not all of them described the study design exhaustively and one failed in mentioning it at all (25). We recommend that future studies should be more specific about the research design and how it is carried out. Second, these studies are not specific enough regarding the timeline of interventions' implementation and when post-intervention measures were obtained. In this sense, it is very important to report the time-lapse of follow-up since the findings of a study can refer to the period of observation or to the moment of the event, which, in this case, was the intervention (29). In this sense, we suggest longer follow-up times, like those in the articles we reviewed where the evaluation was carried out immediately after the implementation of the interventions. Finally, more than half of the studies reviewed used only self-reported measures, which are not as reliable as objective measures and present a high risk of bias (30). We suggest the use of more objective measures, for example, the use of accelerometry or pedometers could be used along with subjective measures. Another potentially valuable possibility is the use of Ecological Momentary Assessment (EMA), which allows for obtaining information on PA behavior and its correlates in real-time (31).

Another important observation was that the studies did not discuss enough how these interventions impact underserved communities and disadvantaged groups. In our sample, only one study discussed this issue with reference to low-income African American women (19). Besides, we did not find any studies in low- or middle-income countries that fit our inclusion criteria of pre- and post-intervention measures on the effect of urban interventions not originally designed to promote PA that could have had a potential effect on this behavior (e.g., BRT, cables, electric stairs, etc.). This evidence is especially useful in economically disadvantaged countries since they tend to experience a disproportionate burden of NCD explained in part by PA low levels.

Another important issue was the authors' understanding of the mechanisms of change related to the interventions assessed along with the theoretical decisions guiding measure selection. An adequate understanding of the mechanism of action behind the interventions would allow explaining behavior changes related to specific interventions (32). Most of the studies, however, did not make an explicit reference to a theory of change and among those that did, only one tested the theory using variables proposed in the TPB in their pre- and post-intervention measurements (19). In this sense, we consider that authors' conceptual frameworks of intervention mechanisms

should be made more explicit. Also, the theoretical decisions guiding the selection of measures should be stated more clearly and in greater detail.

According to the World Health Organization (33), it is essential to adopt a “Health in All Policies” approach to help improve populations’ health and health equity. Accordingly, we recommend that interventions in the built environment take into account aspects to benefit and promote the practice of physical activity, especially in low- and middle-income countries.

We did not find any study in languages other than English and none were carried out in Latin America and the Caribbean region, which we believe is a limitation of the study. Although we wanted to focus on interventions that were not initially designed to change PA, we only used health sciences databases because we were analyzing the PA outcome measure. Our expectation was to include studies in low-income and minority communities, but only one of them explicitly referred to the inclusions of participants in this category and, therefore, it was not possible to draw generalizations for such populations.

As for the strengths of the study, it is worth mentioning that we included interventions from fields other than health whose purpose was not the promotion of healthy behaviors such as PA but can nonetheless be effective in promoting them. Additionally, our interdisciplinary and multilingual team broadened the review scope with abstracts in English, Spanish, and Portuguese. Our findings showed that built environment interventions not designed to promote PA are potentially effective in encouraging this behavior.

## References

1. Organización Mundial de la Salud. Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2014. Date of entry: 23 de octubre de 2018. Available at: <https://www.who.int/nmh/publications/ncd-status-report-2014/es/>
2. Organización Mundial de la Salud. Plan de acción para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles en las Américas 2013-2019. Date of entry: 23 de octubre de 2018. Available at: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/plan-accion-prevencion-control-ent-americas.pdf>
3. World Health Organization. Causes of death 2008: Data sources and methods. Date of entry: 29 de junio de 2018. Available at: [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)
4. Warburton DE, Bredin SS. Health benefits of physical activity: A systematic review of current systematic reviews. *Curr Opin Cardiol.* 2017;32:541-56. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000437>
5. Warburton DE, Bredin SS. Reflections on physical activity and health: What should we recommend? *Can J Cardiol.* 2016;32:495-504. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2016.01.024>
6. Montemurro GR, Berry TR, Spence JC, Nykiforuk C, Blanchard C, Cutumisu N. “Walkable by Willpower”: Resident perceptions of neighbourhood environments. *Health Place.* 2011;17:895-901. <https://doi.org/10.1016/j.healthplace.2011.04.010>
7. Pearce JR, Maddison R. Do enhancements to the urban built environment improve physical activity levels among socially disadvantaged populations? *Int J Equity Health.* 2011;10:28. <https://doi.org/10.1186/1475-9276-10-28>
8. McCormack GR, Shiell A. In search of causality: A systematic review of the relationship between the built environment and physical activity among adults. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2011;8:125. <https://doi.org/10.1186/1479-5868-8-125>
9. Smith M, Hosking J, Woodward A, Witten K, MacMillan A, Field A, *et al.* Systematic literature review of built environment effects on physical activity and active transport – an update and new findings on health equity. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2017;14:158. <https://doi.org/10.1186/s12966-017-0613-9>

10. Ferdinand A, Sen B, Rahurkar S, Engler S, Menachemi N. The relationship between built environments and physical activity: A systematic review. *Am J Public Health*. 2012;102:e7-13. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2012.300740>
11. Glanz K, Rimer BK, Viswanath K, editors. *Health behavior and health education: Theory, research, and practice*. 4th edition. San Francisco: Jossey-Bass; 2008.
12. UN General Assembly. *Transforming our world: The 2030 agenda for sustainable development*. Date of entry: 25 de julio de 2021. Available at: <https://www.refworld.org/docid/57b6e3e44.html>
13. Community Preventive Services Task Force. *Physical Activity: Built environment approaches combining transportation system interventions with land use and environmental design*. Date of entry: 23 de octubre de 2018. Available at: <https://www.thecommunityguide.org/sites/default/files/assets/PA-Built-Environments.pdf>
14. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *Ann Intern Med*. 2009;151:264. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00135>
15. Sallis JF, Cerin E, Kerr J, Adams MA, Sugiyama T, Christiansen LB, *et al.* Built environment, physical activity, and obesity: Findings from the International Physical Activity And Environment Network (IPEN) adult study. *Ann Rev Public Health*. 2020;41:119-39. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-040218-043657>
16. Sallis JF, Owen N, Fisher E. Ecological models of health behavior. In: Glanz K, Rimer BK, Viswanath K, editors. *Health behavior and health education: Theory, research, and practice*. 4th edition. San Francisco: Jossey-Bass; 2008. p. 465-85.
17. World Health Organization. WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour: Web annex: evidence profiles. Date of entry: 28 de septiembre de 2021. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336656/9789240015128-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
18. The Community Guide. *Increasing physical activity: Built environment approaches*. Date of entry: 28 de septiembre de 2021. Available at: <https://www.thecommunityguide.org/sites/default/files/assets/OnePager-Physical-Activity-built-environment.pdf>
19. Wells NM, Yang Y. Neighborhood design and walking. A quasi-experimental longitudinal study. *Am J Prev Med*. 2008;34:313-9. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2008.01.019>
20. Sun G, Oreskovic NM, Lin H. How do changes to the built environment influence walking behaviors? A longitudinal study within a university campus in Hong Kong. *Int J Health Geogr*. 2014;13:28. <https://doi.org/10.1186/1476-072X-13-28>
21. Prins RG, Panter J, Heinen E, Griffin SJ, Ogilvie DB. Causal pathways linking environmental change with health behaviour change: Natural experimental study of new transport infrastructure and cycling to work. *Prev Med*. 2016;87:175-82. <https://doi.org/10.1016/j.YPMED.2016.02.042>
22. Morrison DS, Thomson H, Petticrew M. Evaluation of the health effects of a neighbourhood traffic calming scheme. *J Epidemiol Community Health*. 2004;58:837-40. <https://doi.org/10.1136/jech.2003.017509>
23. Hong A, Boarnet MG, Houston D. New light rail transit and active travel: A longitudinal study. *Transp Res Part A Policy Pract*. 2016;92:131-44. <https://doi.org/10.1016/J.TRA.2016.07.005>
24. Panter J, Heinen E, Mackett R, Ogilvie D. Impact of new transport infrastructure on walking, cycling, and physical activity. *Am J Prev Med*. 2016;50:e45-e53. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2015.09.021>
25. Brown BB, Werner CM, Tribby CP, Miller HJ, Smith KR. Transit use, physical activity, and body mass index changes: Objective measures associated with complete street light-rail construction. *Am J Public Health*. 2015;105:1468-74. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2015.302561>
26. Glanz K, Bishop DB. The role of behavioral science theory in development and implementation of public health interventions. *Annu Rev Public Health*. 2010;31:399-418. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.012809.103604>
27. Barnett DW, Barnett A, Nathan A, Cauwenberg J, Cerin E. Built environmental correlates of older adults' total physical activity and walking: a systematic review and meta-analysis. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2017;14:103. <https://doi.org/10.1186/s12966-017-0558-z>

28. Rhodes RE, Saelens BE, Sauvage-Mar C. Understanding physical activity through interactions between the built environment and social cognition: A systematic review. *Sport Med.* 2018;48:1893-912. <https://doi.org/10.1007/s40279-018-0934-0>
29. Betensky RA. Measures of follow-up in time-to-event studies: Why provide them and what should they be? *Clin Trials.* 2015;12:403-8. <https://doi.org/10.1177/1740774515586176>
30. Prince SA, Adamo KB, Hamel M, Hardt J, Connor S, Tremblay M. A comparison of direct versus self-report measures for assessing physical activity in adults: A systematic review. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2008;5:56. <https://doi.org/10.1186/1479-5868-5-56>
31. Dunton GF. Ecological momentary assessment in physical activity research. *Exerc Sport Sci Rev.* 2017;45:48. <https://doi.org/10.1249/JES.0000000000000092>
32. Michie S, Carey RN, Johnston M, Rothman AJ, de Bruin M, Kelly MP, *et al.* From theory-inspired to theory-based interventions: A protocol for developing and testing a methodology for linking behaviour change techniques to theoretical mechanisms of action. *Ann Behav Med.* 2016;52:1-12. <https://doi.org/10.1007/s12160-016-9816-6>
33. World Health Organization. Plan de acción sobre la salud en todas las políticas: informe final. Date of entry: 27 de julio de 2021. Available at: file:///Users/susanabarradas/Downloads/CD58-INF-3-s-salud-todas-politicas.pdf

Artículo original

## Caracterización clínica y funcional de pacientes con atrofia muscular espinal en el centro-occidente colombiano

Natalia Cardona<sup>1,2</sup>, Sandra Jhoana Ocampo<sup>3</sup>, Jorge Mario Estrada<sup>2</sup>, María Isabel Mojica<sup>2</sup>, Gloria Liliana Porras<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Enfermedades Huérfanas – ComSentido, Salud Comfamiliar, Comfamiliar Risaralda, Pereira, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación Salud Comfamiliar, Comfamiliar Risaralda, Pereira, Colombia

<sup>3</sup> Maestría en Genética Humana, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** La atrofia muscular espinal es una enfermedad neurodegenerativa huérfana de origen genético que afecta las neuronas motoras del asta anterior de la médula espinal, y produce atrofia y debilidad muscular. En Colombia, son pocos los estudios publicados sobre la enfermedad y no hay ninguno con análisis funcional.

**Objetivo.** Caracterizar clínica y funcionalmente una serie de casos de atrofia muscular espinal del centro-occidente colombiano.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio descriptivo transversal, entre el 2007 y el 2020, de pacientes con diagnóstico clínico y molecular de atrofia muscular espinal que consultaron en el centro de atención. La evaluación funcional se realizó con las escalas Hammersmith y *Chop Intend*. En la sistematización de los datos, se empleó el programa Epi-Info, versión 7.0.

**Resultados.** Se analizaron 14 pacientes: 8 mujeres y 6 hombres. La atrofia muscular espinal más prevalente fue la de tipo II, la cual se presentó en 10 casos. Se encontró variabilidad fenotípica en términos de funcionalidad en algunos pacientes con atrofia muscular espinal de tipo II, cinco de los cuales lograron alcanzar la marcha. La estimación de la supervivencia fue de 28,6 años.

**Conclusiones.** Los hallazgos en el grupo de pacientes analizados evidenciaron que los puntajes de la escala de Hammersmith revisada y expandida, concordaron con la gravedad de la enfermedad.

**Palabras clave:** atrofia muscular espinal; enfermedades raras; fisioterapia.

### Clinical-functional characterization of patients with spinal muscular atrophy in Central-Western Colombia

**Introduction:** Spinal muscular atrophy is a rare genetic neurodegenerative disorder affecting the motor neurons of the anterior horn of the spinal cord, which results in muscle atrophy and weakness. In Colombia, few studies have been published on the pathology and none with functional analysis.

**Objective:** To characterize clinically and functionally some cases of spinal muscular atrophy patients from Central-Western Colombia.

**Materials and methods:** We conducted a cross-sectional descriptive study between 2007 and 2020 with patients clinically and molecularly diagnosed with spinal muscular atrophy who attended a care center. For the functional assessment we used the Hammersmith and Chop-Intend scales and the data were systematized with the Epi-Info, version 7.0 software.

**Results:** We analyzed 14 patients (42.8% men). The most prevalent spinal muscular atrophy was type II with 71.4%. We found phenotypic variability in terms of functionality in some patients with type II spinal muscular atrophy, 37.5% of whom reached gait. Survival was estimated at 28.6 years.

**Conclusions:** The findings in the group of patients analyzed revealed that the scores of the revised and expanded Hammersmith scales correlated with the severity of SMA.

**Keywords:** Muscular atrophy, spinal; rare diseases; physical therapy specialty.

**Recibido:** 15/06/2021

**Aceptado:** 11/11/2021

**Publicado:** 25/11/2021

**Citación:**

Cardona N, Ocampo SJ, Estrada JM, Mojica MI, Porras GL. Caracterización clínica y funcional de pacientes con atrofia muscular espinal en el centro-occidente colombiano. *Biomédica*. 2022;42:89-99. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6178>

**Correspondencia:**

Gloria Liliana Porras, Grupo de Investigación Salud Comfamiliar, Comfamiliar Risaralda, Pereira, Colombia  
gporras@comfamiliar.com

**Contribución de los autores:**

Gloria Liliana Porras, Natalia Cardona, Sandra Jhoana Ocampo y María Isabel Mojica: evaluación de pacientes, recolección de datos y redacción del manuscrito  
Jorge Mario Estrada: análisis estadístico

**Financiación:**

Comfamiliar Risaralda apoyó la realización de la investigación y la elaboración del manuscrito.

**Conflicto de intereses:**

Los autores declaramos no tener conflicto de intereses.

La atrofia muscular espinal es una enfermedad neurodegenerativa rara que afecta las neuronas motoras del asta anterior de la médula espinal (1,2). Es el segundo trastorno autosómico recesivo más común, con una incidencia estimada de 1 en 6.000 a 1 en 10.000 nacidos vivos, según estudios en la población general (3,4). En México, la incidencia reportada es de 0,5 a 1 por cada 25,000 nacimientos (5). Son pocos los estudios publicados en Colombia sobre esta enfermedad (2), por lo que no se cuenta con estadísticas claras sobre su incidencia ni su prevalencia.

La forma clásica de la enfermedad es producto de una variante en los genes que codifican la proteína de la supervivencia de la motoneurona (*SMN1* y *SMN2*), ubicados en el brazo largo del cromosoma 5, y es parte de una duplicación invertida de 500 kb en el cromosoma 5q13. Esta región duplicada contiene, al menos, cuatro genes y elementos repetitivos que la hacen propensa a reordenamientos y deleciones (6).

El gen está presente en múltiples copias en el genoma humano, una telomérica, *SMN1*, y varias copias centroméricas, *SMN2*, que se diferencian en un solo nucleótido en el exón 7, el cual se cree que es un potenciador del empalme del exón (7); dichas copias son casi idénticas y codifican la misma proteína. Estos genes contienen nueve exones de las copias telomérica y centromérica que se designan como exón 1, 2a, 2b y 3-8. Las mutaciones en la copia telomérica están asociadas con la atrofia muscular espinal, en tanto que las mutaciones en la copia centromérica no producen la enfermedad (7).

El gen *SMN2* presenta una tendencia a un empalme génico alternativo (*alternative splicing*) durante la transcripción del ARNm que origina una proteína truncada, con solo el 10 % de la proteína SMN completa. Este gen puede ser un modificador de la enfermedad causada por una mutación en la copia telomérica (8). Se cree que los eventos de conversión de genes pueden involucrar los dos genes, lo que lleva a un número variable de copias de cada gen (7).

La gravedad de la atrofia muscular espinal clásica es muy variable (8), lo que resulta en características clínicas heterogéneas, las cuales pueden clasificarse en cinco fenotipos con base en la edad de inicio y la función motora máxima alcanzada. Debe considerarse como diagnóstico diferencial en la hipotonía congénita ya que, dependiendo de la alteración en el gen, se producen varios fenotipos. El fenotipo 0 se desarrolla en la vida intrauterina y es de suma gravedad (9). Le sigue el fenotipo I, correspondiente a la enfermedad más grave en los primeros años. Los fenotipos I y III son identificados en la infancia como intermedios y el fenotipo IV aparece en la adultez (10,11).

La fisiopatología derivada de la historia natural y la función motora de la atrofia muscular espinal, depende de la pérdida temprana de neuronas motoras (12). Hasta hace poco, el diagnóstico era tardío ya que, a partir de la sospecha clínica, se requerían una biopsia muscular y un estudio electrofisiológico y había limitaciones en el acceso a la confirmación molecular. Los avances tecnológicos han hecho posible un diagnóstico más temprano y oportuno de la enfermedad, permitiendo la atención oportuna y el manejo interdisciplinario, con la consecuente reducción del estrés del paciente y del cuidador, y un mejor desempeño funcional. Además, el acceso a tratamientos farmacológicos con énfasis en la terapia génica mejora la calidad de vida de los pacientes y el pronóstico de la enfermedad (13-17).

En la evaluación funcional de la atrofia muscular espinal, se emplean diversas escalas (*Chop Intend, Rulm, Gross Motor Function Measure*), pero la más

destacada es la escala de la función motora de Hammersmith (*Hammersmith Functional Motor Scale* - HFMS), cuya eficacia ha sido demostrada en diversos artículos (18). La HFMS se utiliza en la población con atrofia muscular espinal sin capacidad de deambulación y, la Hammersmith expandida (HFMSE), en quienes tienen capacidad de deambulación (19-21). En población afectada por el tipo I de la enfermedad, la escala utilizada es la *Chop Intend*.

En este contexto, se hizo un estudio descriptivo para caracterizar clínica y funcionalmente la atrofia muscular espinal en la región centro-occidente del país mediante una encuesta y el uso de escalas de funcionalidad en una serie de casos incluidos en la base de datos de una clínica local.

### **Materiales y métodos**

Se hizo un estudio descriptivo transversal en el que se caracterizaron variables demográficas y clínicas de 14 pacientes con diagnóstico clínico de atrofia muscular espinal, confirmado mediante criterios clínicos y biopsia muscular sometida a estudio molecular (análisis de la delección y secuenciación de los genes *SMN1* y *SMN2*). El estudio contó con el consentimiento informado de los pacientes y fue aprobado por el comité de ética de la institución.

La muestra se estableció a partir de la revisión de los registros clínicos, entre el 2007 y el 2020, de pacientes con los siguientes diagnósticos: atrofia muscular espinal, enfermedades de las neuronas motoras, otras atrofas musculares espinales hereditarias, otras atrofas musculares y síndromes afines, neuromiopatía y neuropatía neoplásica.

Una vez confirmado el diagnóstico, cada uno de los pacientes fue evaluado por los investigadores (genetista, fisiatra, fisioterapeuta y médico capacitado) mediante una encuesta, un examen físico exhaustivo y las escalas de la función motora de Hammersmith y la Hammersmith expandida para atrofia muscular espinal de tipos II y III, en tanto que, para la de tipo I, se utilizó la escala *Chop Intend*. Las escalas funcionales fueron utilizadas por un fisiatra y un fisioterapeuta capacitados en su uso.

Los datos se consignaron en un formulario elaborado con todas las variables clínicas y paraclínicas utilizadas para la caracterización clínica, epidemiológica y funcional. La sistematización de los datos se hizo en Epi-Info, versión 7.0, en un formulario validado y diligenciado directamente por uno de los autores. Se exportó una hoja de cálculo al programa Stata™, versión 14.1, y se programó un análisis univariado después de la evaluación mediante un análisis exploratorio. Las medidas numéricas de resumen se expresaron en medianas y percentiles y, las variables categóricas, en frecuencias absolutas y relativas.

### **Resultados**

Se caracterizaron 14 pacientes que cumplían con los criterios clínicos y contaban con los estudios diagnósticos confirmatorios (prueba molecular para atrofia muscular espinal tipos I, II y III). La prevalencia de la atrofia muscular espinal de tipo I fue de 1/14, la de tipo II fue de 10/14 y la de tipo III fue de 3/14. En el cuadro 1 se muestran las características demográficas de los pacientes analizados, 8 mujeres y 4 hombres; tres fueron adultos empleados. Dos pacientes tenían algún familiar de primer grado con atrofia muscular espinal y, un paciente, un familiar de segundo grado. No se reportó ningún tipo de consanguinidad en los padres de los pacientes.

La mediana de edad al inicio de los síntomas de las atrofas de tipos I, II y III fue de 1, 9 y 30 meses, respectivamente, y en el momento de su diagnóstico, de 11, 36 y 48 meses, respectivamente.

Dos de los 14 pacientes analizados fallecieron antes de la realización de la prueba molecular y su diagnóstico se estableció con base en los síntomas y el reporte de la biopsia muscular. A 12 de los pacientes se les hizo estudio molecular para el *SMN1* y, a 9 para el *SMN2*.

En el cuadro 2 se resumen las manifestaciones clínicas. En el momento de la evaluación, un paciente con atrofia muscular espinal de tipo I presentaba debilidad muscular, hipotonía, disminución de reflejos tendinosos, retraso en el desarrollo, contracturas musculares y disnea. Todos los pacientes con la de tipo II presentaban escoliosis, 9/10 tenían debilidad muscular, hipotonía y disminución de reflejos tendinosos; 8/10 presentaban atrofia muscular, 7/10 retraso en el desarrollo motor, y 5/10, contracturas musculares. Todos aquellos con la de tipo III presentaban hipotonía, debilidad muscular, disminución de reflejos tendinosos, atrofia muscular y displasia de cadera, y 2/3 de este grupo presentaba escoliosis. En la muestra analizada, había un paciente de 5 años con atrofia muscular espinal de tipo I que presentaba gastrostomía y traqueotomía, y requería asistencia respiratoria mecánica permanente. Dos pacientes, uno con la de tipo II y otro con la de tipo III, fallecieron por causas relacionadas con la enfermedad. Se analizó la curva de supervivencia y se estimó una supervivencia de 28,6 años (IC95% 24,8-32,5) (figura 1).

**Cuadro 1.** Características demográficas de 14 pacientes con atrofia espinal muscular

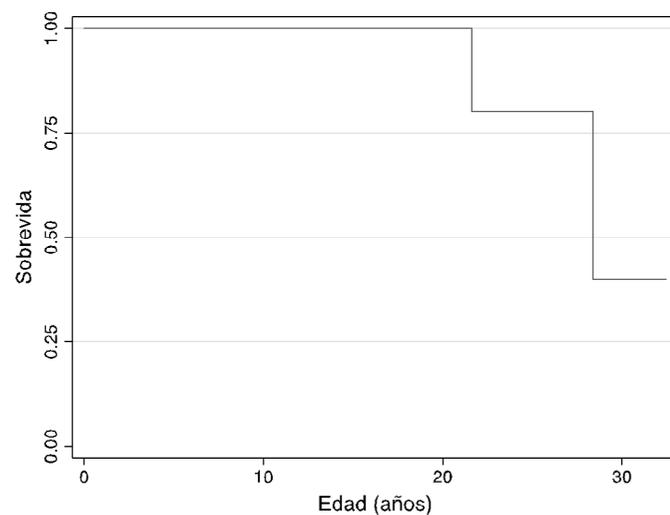
	Tipo I n=1	Tipo II n=10	Tipo III n=3	Total N=14
Sexo				
Masculino	0	4	1	5
Femenino	1	6	2	9
Edad actual (años)				
Me (P <sub>25</sub> -P <sub>75</sub> )	5 (5 - 5)	15 (11 - 27)	15 (14 - 16)	15 (11 - 26)
Ocupación				
Empleado	0	2	1	3
Desempleado	0	0	1	1
Estudiante	0	7	1	8
Sin datos	1	1	0	2
Inicio de síntomas (meses) Me (P <sub>25</sub> -P <sub>75</sub> )	1 (1 - 1)	9 (8 - 11)	30 (24 - 36)	10 (7,5 - 12)
Edad de diagnóstico (meses) Me (P <sub>25</sub> -P <sub>75</sub> )	11 (11 - 11)	36 (18 - 132)	48 (36 - 348)	36 (18 - 132)
Antropometría				
Peso (kg)				
Me (P <sub>25</sub> -P <sub>75</sub> )				
Talla (cm)				
Me (P <sub>25</sub> -P <sub>75</sub> )	105 (105 - 105)	150 (120 - 151)	165 (153 - 165)	150 (120 - 154)
IMC				
Me (P <sub>25</sub> -P <sub>75</sub> )	11,8 (11,8 - 11,8)	19,5 (12,6 - 21,5)	19,7 (10,7 - 22,1)	19,5 (11,8 - 21,5)
Diagnóstico molecular				
<i>SMN1</i>	1	9	2	12
<i>SMN2</i>	0	8	1	9
Sin datos	0	1	0	1
Antecedentes				
Familiar con AME	0	2	1	3

IMC: índice de masa corporal; AME: atrofia muscular espinal; SD: sin datos; Me: mediana; P<sub>25</sub>: percentil 25; P<sub>75</sub>: percentil 75;

**Cuadro 2.** Características clínicas de los pacientes con atrofia espinal muscular en el momento de la evaluación

	Tipo I n	Tipo II n	Tipo III n	Total n
Control de esfínteres	0	7	2	9
Debilidad muscular	1	9	3	13
Hipotonía	1	9	3	13
Disminución de reflejos tendinosos	1	9	3	13
Atrofia muscular	1	8	3	12
Fasciculaciones linguales	0	6	2	8
Retraso del desarrollo motor	1	7	3	11
Contracturas musculares	1	5	1	7
Disnea	1	5	1	7
Malnutrición	0	1	0	1
Displasia de cadera	0	6	1	7
Escoliosis	1	10	2	13
Apnea del sueño	0	3	0	3
Gastrostomía	1	0	0	1
Traqueostomía	1	1	1	3
Asistencia respiratoria mecánica	1	1	0	2
Oxigenoterapia	0	1	0	1
Antecedente quirúrgico ortopédico	0	4	2	6
Adquisición de marcha	0	3	3	6
Edad de pérdida (años) de marcha	SD	11 (10 - 13)	3 (3 - 11)	10,5 (3 - 11)

Me: mediana; RIQ: rango intercuartílico; SD: sin datos

**Figura 1.** Curva de supervivencia de Kaplan-Meier en pacientes con atrofia muscular espinal

En la evaluación funcional de los pacientes con atrofia muscular espinal de tipo I, se empleó la escala *Chop Intend* y, en la de los tipos II y III, se utilizaron las versiones revisada y expandida de la escala Hammersmith, cuya puntuación máxima es 40 en la primera y 66 en la segunda. En la evaluación funcional de los pacientes con atrofia de tipo II, la mediana del puntaje fue de 12,3 (rango intercuartílico: 19,5) y, en aquellos con la de tipo III, esta fue de 0,0 (rango intercuartílico: 26), sin diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,536$ ).

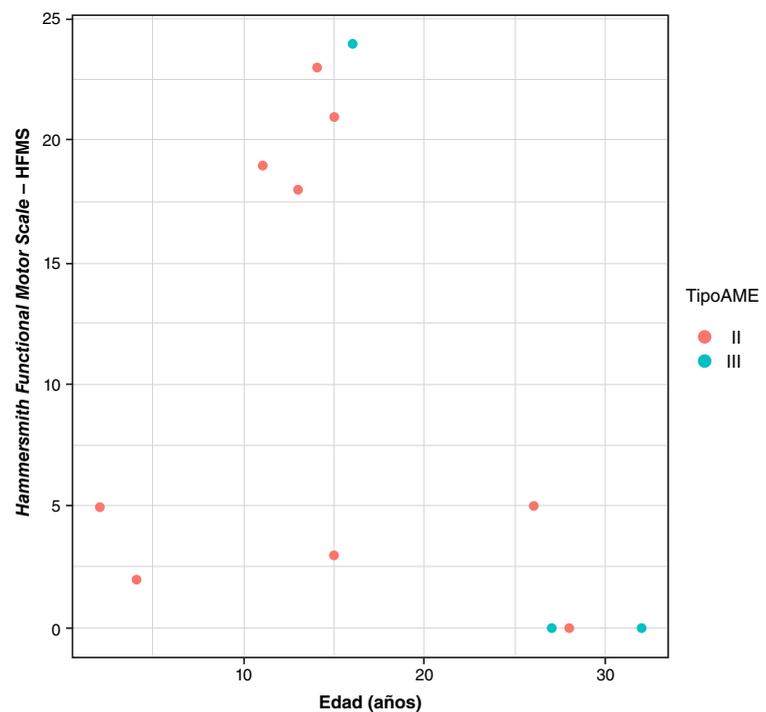
El puntaje funcional en el paciente de la cohorte con atrofia muscular espinal de tipo I, fue de 3 a la edad del análisis (5 años). En 5 de los 9 casos de la de tipo II, se obtuvieron puntajes en la escala de Hammersmith que oscilaron entre 0 y 5; 4 de ellos obtuvieron valores mayores, cercanos a los puntajes funcionales de aquellos con la de tipo III (entre 18 y 20). Dos de

los pacientes con atrofia de tipo III obtuvieron un puntaje de 0. Se encontró una correlación entre la edad en el momento de la evaluación y el puntaje funcional en la escala de Hammersmith (figura 2).

### Discusión

La atrofia muscular espinal es una condición rara cuyo manejo diagnóstico ha tenido cambios sustanciales en los últimos años con el advenimiento de las nuevas técnicas moleculares que han relegado la biopsia muscular a ser un estudio de segunda línea (19). Dos de los pacientes estudiados habían sido diagnosticados años atrás mediante biopsia muscular y fallecieron antes de poder practicarles la prueba molecular, lo que hubiera permitido un adecuado asesoramiento genético familiar.

Los estudios demográficos de la atrofia muscular espinal a nivel mundial se han realizado en pequeñas cohortes con características heterogéneas, en su mayoría en países europeos. Esta situación ha llevado a que el porcentaje reportado para los subtipos sea diferente en cada estudio. Por ejemplo, en el de Verhaart, *et al.*, en el que se unificaron los datos de prevalencia e incidencia de la enfermedad y sus diferentes subtipos disponibles a nivel mundial, los autores concluyeron que la prevalencia general era de 1 a 2 por cada 100.000 nacidos vivos, siendo las atrofas musculares de tipo II y III las más frecuentes, con el 75 % de casos, en tanto que la de tipo I registró el 28 % de los casos, aproximadamente (4). En una descripción de 29 casos en Medellín, se encontró que la forma más común era la atrofia muscular espinal de tipo II, con el 62,1 % de los casos (2).



**Figura 2.** Relación funcional de pacientes con atrofia muscular espinal de acuerdo con la edad

En el grupo de pacientes reportados en este estudio se encontró que la forma más común fue la atrofia muscular espinal de tipo II (10/14), seguida de las de tipos III (3/14) y la tipo I (1/14), lo que coincide con los hallazgos publicados a nivel mundial. Este bajo porcentaje de prevalencia de la atrofia muscular espinal de tipo I se explica, como en otros estudios, por las bajas tasas de supervivencia de los pacientes con este fenotipo.

La atrofia muscular espinal se clasifica en diferentes fenotipos, pero se mantienen, en general, los grupos de atrofia muscular espinal de los tipos I, II, III y IV, aunque en algunos se hace una descripción más detallada y se introducen subdivisiones. Por ejemplo, en el 2005, Bertini, et al., subdividieron la atrofia muscular espinal de tipo I en tres grupos: 1A o cero, IB y IC, según las manifestaciones clínicas y la gravedad en el momento del nacimiento (20).

La de tipo 1A es la más grave, ya que el neonato presenta contracturas articulares y escasos movimientos, y hay necesidad de darle soporte respiratorio. El tipo 1B se caracteriza por un control deficiente de la cabeza y dificultad para manejar las secreciones orales, y su pronóstico es intermedio. En el tipo 1C hay control de la cabeza y posibilidad de sentarse con apoyo, por lo que el pronóstico es mejor (20).

En este estudio solo hubo un paciente de 5 años con atrofia muscular espinal de tipo IC, cuyos síntomas habían aparecido antes del año; presentaba debilidad muscular grave, hipotonía, arreflexia y atrofia muscular, y requería asistencia respiratoria mecánica permanente y alimentación por gastrostomía.

En las cohortes de pacientes con atrofia muscular espinal del tipo I descritas en la literatura especializada, la edad mediana de muerte ha sido de 13,5 meses y todos los mayores de 12 meses han requerido soporte respiratorio y alimentación por gastrostomía (21). Las características de la de tipo I de este estudio no son comparables con las reportadas en otros estudios, pues se trató de un solo paciente con una supervivencia por encima de la usualmente reportada, lo que respondería a la disponibilidad de nuevas terapias. El caso, además, podría clasificarse en el subgrupo 1C del tipo I (22).

En la cohorte constituida por 240 pacientes con atrofia muscular espinal de tipo II descrita por Zerres, et al. (23), ninguno alcanzó la marcha independiente y la mayoría desarrollaron escoliosis y contracturas tempranamente. En la cohorte analizada en este estudio, todos los pacientes con atrofia muscular espinal de tipo II desarrollaron escoliosis, 5/10 presentaban contracturas musculares y 3/10 alcanzaron la marcha. Según las escalas de Hammersmith revisada y expandida, entre estos casos había variedad fenotípica y se obtuvieron puntuaciones bajas y medias en aquellos con la atrofia de los tipos II y III, resultados que demuestran la capacidad de dichas escalas para discriminar la capacidad motora y funcional entre los diferentes fenotipos de atrofia muscular espinal en los pacientes de esta región del país.

Todos los pacientes con atrofia muscular espinal de tipo III descritos en la cohorte de Zerres, et al. (23), lograron caminar sin ayuda y el curso de la enfermedad se caracterizó por una progresión lenta y con períodos de aparente detención del deterioro. De estos 320 pacientes, únicamente el 10 % falleció y las muertes no estuvieron relacionadas con la enfermedad. En este grupo, las características clínicas más importantes fueron el desarrollo de escoliosis en el 66,7 % de los casos y de displasia de cadera en el 33,3 % y, como ya se dijo, todos los pacientes lograron la marcha y el 66,6 % de ellos

estudiaba carreras técnicas o profesionales en el momento de la evaluación (23). En el presente estudio, uno de los pacientes con atrofia muscular espinal de tipo III falleció y su muerte estuvo relacionada con la enfermedad.

Debido a que los síntomas de la atrofia muscular espinal de tipo III aparecen mucho más tardíamente, esta suele diagnosticarse más tarde que las de los tipos I y II. Lin, *et al.* (13), en su revisión sistemática de estudios en Asia, Europa y Norteamérica, informaron que el tiempo transcurrido entre la aparición de los síntomas y el diagnóstico de la enfermedad fue de 3,6, 14,3 y 43,6 meses para los tipos I, II y III, respectivamente. En México, Urrutia, *et al.*, informaron que el retraso en el diagnóstico había sido de 6, 38 y 42 meses para los tipos I, II y III, respectivamente, datos similares a los del presente estudio, con 11, 36 y 48 meses para los tipos I, II y III, respectivamente (5).

Debe mencionarse que los pacientes con el tipo III llegan a la adolescencia y la adultez logrando estar de pie o caminar sin apoyo, aunque la gran mayoría de ellos pierde la deambulación con el tiempo (24). Esto se correlaciona con los datos encontrados en nuestra serie de casos, en la que se evidenció una mayor proporción de pacientes adolescentes y adultos con atrofia muscular espinal de los tipos II y III.

La mediana de supervivencia estimada (50%) para los pacientes con atrofia muscular espinal analizados en el presente estudio, fue de 28,6 años, dato similar a los de otros estudios con supervivencia de 68,5 % a los 25 años (23).

El antecedente de familiares con atrofia muscular espinal y la consanguinidad, constituyen una alerta para el médico de atención primaria, por lo que esto debe averiguarse siempre en los casos de niños hipotónicos (5). En un estudio realizado en México, el porcentaje global de consanguinidad fue de 10,4 % y en comunidades urbanas, de 9 % (5); además, dos de las 31 familias reportaron consanguinidad. En un estudio en Medellín, se evidenció que el 13,7 % de los pacientes tenía familiares afectados (2).

En el presente estudio, se encontró que 3/14 de los pacientes tenía familiares afectados. Llama la atención que toda la región comparte la ancestralidad de padre español y madre indígena, así como una historia de pocas familias con numerosos hijos que poblaron toda la región, por lo que podría existir un efecto fundador con múltiples portadores que solo podría detectarse mediante un tamizaje neonatal para confirmar su presencia y el riesgo de la enfermedad en la zona (25). Sin duda, ello contribuiría al diagnóstico temprano y a un tratamiento precoz, incluso desde la etapa presintomática, con incidencia en la evolución de la enfermedad y mejoras significativas en la funcionalidad y la calidad de vida de los pacientes.

En términos de funcionalidad, en las cohortes de pacientes con atrofia muscular espinal de tipo I, se describen puntajes promedio en la escala *Chop Intend* de 5,3 ( $\pm$  2,8) a los 24 meses de edad (26) y, en el presente estudio, el niño con atrofia muscular espinal de tipo I obtuvo una puntuación de 3 a los 5 años. En la evaluación funcional de los pacientes con los tipos II y III con las versiones revisada y expandida de la escala Hammersmith, no se encontraron diferencias importantes en las puntuaciones promedio en los de tipo II comparados con los de tipo III. Según lo reportado sobre las propiedades de la escala, esta puede discriminar los diferentes tipos de presentación clínica de la enfermedad (27); no obstante, esto podría no haberse evidenciado debido al reducido tamaño de la muestra, ya que solo tres pacientes tenían atrofia muscular espinal de tipo III. En el

presente estudio, además de describir la funcionalidad de los pacientes, no se encontró correlación de las puntuaciones obtenidas en la escala con el número de copias de *SMN2* presentes.

En la revisión de los estudios publicados en Colombia, no se encontró ninguno que describiera la funcionalidad en pacientes con atrofia de los tipos II y III, según la escala de Hammersmith y la de Hammersmith expandida. En la mayoría de los estudios en que se emplearon escalas funcionales para estos tipos de atrofia muscular, se analizan los cambios en los puntajes funcionales en un período variable de acuerdo con la cohorte. En general, en las cohortes reportadas en la literatura, la reducción en los puntajes funcionales empieza a ser evidente después de los 12 meses de seguimiento en casos de atrofia de los tipos II y III no tratados con nusinersen (28).

La variabilidad fenotípica de la funcionalidad en 4 de los 9 pacientes con atrofia muscular espinal de tipo II, encontrada en el presente estudio con puntajes cercanos a 20 podría deberse a la variabilidad en el número de copias *SMN2* en pacientes heterocigotos es similar a la reportada por otros autores, esto, como la (29). La identificación de variantes con papel modificador como la c. 460C> T en el gen *SMN2* relacionada con un fenotipo de leve gravedad, y las variantes c.770\_780dup y c.734\_735insC aportan a un fenotipo variable.

En otros estudios se menciona el papel importante de algunos genes cercanos a *SMN1* y *SMN2* que, al parecer, son claves en la modificación de la gravedad de la enfermedad, como es el caso de los genes *NAIP*, *H4F5*, *GTF2H2* y *PLS3* (31-33). Estos hallazgos permiten determinar que, en el grupo de pacientes colombianos analizados en la presente serie, los puntajes de la escala de Hammersmith revisada y la expandida se correlacionaron con la gravedad de la enfermedad.

Actualmente, las pruebas moleculares permiten el diagnóstico temprano y no invasivo de la atrofia muscular espinal, que antes se hacía con base en criterios clínicos y familiares y la biopsia, como lo evidencian los pacientes de mayor edad en el presente estudio, quienes fueron diagnosticados de forma tardía y no contaban con los datos sobre el número de copias de *SMN2*; además, un paciente con diagnóstico clínico, familiar y biopsia falleció antes de que se le practicara la prueba molecular.

En el presente estudio, hubo una gran proporción de pacientes adultos con atrofia muscular espinal, profesionales que tienen una vida activa y socialmente productiva, por lo que se beneficiarían de los tratamientos disponibles actualmente, logrando 1 o 2 puntos en la escala Hammersmith expandida, lo que significaría una mejoría clínicamente significativa dado su riesgo de deterioro progresivo y muerte. La asociación entre el diagnóstico molecular y el manejo interdisciplinario temprano de los pacientes, sumada al análisis funcional mediante pruebas disponibles, permite el correcto manejo de los pacientes con atrofia muscular espinal.

En estudios posteriores se debe evaluar objetivamente la prevalencia de esta enfermedad en el eje cafetero. Hoy no se cuenta con tamizaje neonatal de la atrofia muscular espinal en la región, aunque la cantidad de pacientes amerita hacerlo dado el alto grado de consanguinidad en la población. En los pacientes analizados en este estudio, se requieren futuros análisis genéticos que pueden detectar variantes modificadoras del fenotipo.

El diseño transversal del presente estudio constituye una limitación, ya que los pacientes se analizaron en una única oportunidad, lo que no permitió evaluar los cambios funcionales a través del tiempo.

### Agradecimientos

A los pacientes por participar en la investigación y permitirnos utilizar sus datos.

### Referencias

1. Tizzano EF, Finkel RS. Spinal muscular atrophy: A changing phenotype beyond the clinical trials. *Neuromuscular Disorders*. 2017;27:883-9. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2017.05.011>
2. Valencia HD, Rendón Muñoz J, Pineda N, Ortiz B, Montoya JH, Cornejo JW. Características clínicas de los pacientes menores de 18 años con atrofia muscular espinal en Medellín, 2008 - 2013. *Acta Neurol Colomb*. 2015;32: 9-17
3. D'Amico A, Mercuri E, Tiziano FD, Bertini E. Spinal muscular atrophy. *Orphanet J Rare Dis*. 2011;6:71. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-6-71>
4. Verhaart IEC, Robertson A, Wilson IJ, Aartsma-Rus A, Cameron S, Jones CC, et al. Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy - A literature review. *Orphanet J Rare Dis*. 2017;12:124. <https://doi.org/10.1186/s13023-017-0671-8>
5. Urrutia-Osorio ME, Ruiz-García M. Demographic and clinical profile in patients with spinal muscular atrophy: Series of 31 patients. *Acta Pediatr Mex*. 2020;41:47-57.
6. Eggermann K, Gläser D, Abicht A, Wirth B. Spinal muscular atrophy (5qSMA): Best practice of diagnostics, newborn screening and therapy. *Medizinische Genet*. 2020;32:263-72.
7. National Library of Medicine. *SMN2* - survival of motor neuron 2, centromeric. 2008. Fecha de consulta: 6 de febrero de 2021. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/kis/ortholog/6607/?scope=32524>
8. Butchbach MER. Genomic variability in the survival motor neuron genes (*SMN1* and *SMN2*): Implications for spinal muscular atrophy phenotype and therapeutics development. *Int J Mol Sci*. 2021;22:7896. <https://doi.org/10.3390/ijms22157896>
9. Febrer A, Meléndez M. Atrofia muscular espinal. Complicaciones y rehabilitación. *Rehabilitación*. 2001;35:307-11. [https://doi.org/10.1016/S0048-7120\(01\)73196-9](https://doi.org/10.1016/S0048-7120(01)73196-9)
10. Talbot K, Phil D, Davies KE, Phil D. Spinal muscular atrophy. *Semin Neurol*. 2001;21:189-97. <https://doi.org/10.1055/s-2001-15264>
11. Alatorre Jiménez M, Alejandro M, Ortiz G, Gabriel, Rodríguez D, Omayra N, et al. Atrofia muscular espinal: Estudio clínico y genético en México. *Revista Médica de Costa Rica*. 2017 Jul 12;74:623.
12. Farrar MA, Vucic S, Johnston HM, Du Sart D, Kiernan MC. Pathophysiological insights derived by natural history and motor function of spinal muscular atrophy. *J Pediatr*. 2013;162:155-9. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.05.067>
13. Lin CW, Kalb SJ, Yeh WS. Delay in diagnosis of spinal muscular atrophy: A systematic literature review. *Pediatr Neurol*. 2015;53:293-300. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2015.06.002>
14. Pachajoa H, Ariza Y, Isaza C, Méndez F. Defectos congénitos mayores en un hospital de tercer nivel en Cali, Colombia 2004-2008. *Rev Salud Pública*. 2011;13:152-62.
15. Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, Arnold WD, Rodino-Klapac LR, Prior TW, et al. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy. *N Engl J Med*. 2017;377:1713-22. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706198>
16. Bertini E, Dessaud E, Mercuri E, Muntoni F, Kirschner J, Reid C, et al. Safety and efficacy of olesoxime in patients with type 2 or non-ambulatory type 3 spinal muscular atrophy: A randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Neurol*. 2017;16:513-522. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30085-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30085-6)
17. Biogen. Biogen and Ionis Pharmaceuticals report nusinersen meets primary endpoint at interim analysis of phase 3 ENDEAR study in infantile-onset spinal muscular atrophy. Biogen Press Release August 1. 2016. Fecha de consulta: 22 de enero de 2021. Disponible en: <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/biogen-and-ionis-pharmaceuticals-report-nusinersen-meets-primary>

18. Wu JW, Pepler L, Maturi B, Afonso ACF, Sarmiento J, Haldenby R. Systematic review of motor function scales and patient reported outcomes in spinal muscular atrophy. *Am J Phys Med Rehabil.* 2021. <https://doi.org/10.1097/PHM.0000000000001869>
19. Ramsey D, Scoto M, Mayhew A, Main M, Mazzone ES, Montes J, *et al.* Revised Hammersmith Scale for spinal muscular atrophy: A SMA specific clinical outcome assessment tool. *PLoS ONE.* 2017;12:e0172346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172346>
20. O'Hagen JM, Glanzman AM, McDermott MP, Ryan PA, Flickinger J, Quigley J, *et al.* An expanded version of the Hammersmith Functional Motor Scale for SMA II and III patients. *Neuromuscul Disord.* 2007;17:693-7. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2007.05.009>
21. Main M, Kairon H, Mercuri E, Muntoni F. The Hammersmith functional motor scale for children with spinal muscular atrophy: A scale to test ability and monitor progress in children with limited ambulation. *Eur J Paediatr Neurol.* 2003;7:155-9.
22. Tizzano E. Atrofia muscular espinal infantil. *Protoc Diagn Ter Pediatr.* 2010;1:125-30.
23. Bertini E, Burghes A, Bushby K, Estournet-Mathiaud B, Finkel RS, Hughes RAC, *et al.* 134<sup>th</sup> ENMC international workshop: Outcome measures and treatment of spinal muscular atrophy 11-13 February 2005 Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord.* 2005;15:802-16. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2005.07.005>
24. Finkel RS, McDermott MP, Kaufmann P, Darras BT, Chung WK, Sproule DM, *et al.* Observational study of spinal muscular atrophy type I and implications for clinical trials. *Neurology.* 2014;83:810-7. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000074>
25. Mercuri E, Lucibello S, Perulli M, Coratti G, De Sanctis R, Pera MC, *et al.* Longitudinal natural history of type I spinal muscular atrophy: A critical review. *Orphanet J Rare Dis.* 2020;15:84. <https://doi.org/10.1186/s13023-020-01356-1>
26. Zerres K, Rudnik-Schöneborn S, Forrest E, Lusakowska A, Borkowska J, Hausmanowa-Petrusewicz I. A collaborative study on the natural history of childhood and juvenile onset proximal spinal muscular atrophy (type II and III SMA): 569 patients. *J Neurol Sci.* 1997;146:67-72. [https://doi.org/10.1016/s0022-510x\(96\)00284-5](https://doi.org/10.1016/s0022-510x(96)00284-5)
27. Salort-Campana E, Quijano-Roy S. Clinical features of spinal muscular atrophy (SMA) type 3 (Kugelberg-Welander disease). *Arch Pediatr.* 2020;27:7S23-8. [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(20\)30273-6](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(20)30273-6)
28. Gravel S, Zakharia F, Mccauley JL, Byrnes JK, Hedges DJ, Gignoux CR, *et al.* Reconstructing the population genetic history of the Caribbean. *PLoS Genet.* 2013;9:e1003925. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003925>
29. Kolb SJ, Coffey CS, Yankey JW, Krossschell K, Arnold WD, Rutkove SB, *et al.* Natural history of infantile-onset spinal muscular atrophy. *Ann Neurol.* 2017;82:883-91. <https://doi.org/10.1002/ana.25101>
30. Kaufmann P, McDermott MP, Darras BT, Finkel RS, Sproule DM, Kang PB, *et al.* *Neurology.* 2012;79:1889-97. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318271f7e4>
31. Mercuri E, Finkel R, Montes J, Mazzone ES, Sormani MP, Main M, *et al.* Patterns of disease progression in type 2 and 3 SMA: Implications for clinical trials. *Neuromuscul Disord.* 2016;26:126-31. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2015.10.006>
32. Wirth B, Karakaya M, Kye MJ, Mendoza-Ferreira N. Twenty-five years of spinal muscular atrophy research: From phenotype to genotype to therapy, and what comes next. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2020;21:231-61. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-102319-103602>
33. Holanda Mendonça R, Matsui C, Polido GJ, Serafim Silva AM, Kulikowski L, Dias AT, *et al.* Intragenic variants in the *SMN1* gene determine the clinical phenotype in 5q spinal muscular atrophy. *Neurol Genet.* 2020;6:e505. <https://doi.org/10.1212/NXG.0000000000000505>

Artículo original

## Sobrepeso y obesidad: factores familiares, dietéticos y de actividad física en escolares de una institución educativa de estrato medio-alto en Cali, Colombia

Adela Herrera<sup>1,2</sup>, Consuelo Sarmiento<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación de Cuidado en Salud, Programa de Enfermería, Universidad Libre, Cali, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Pediatría, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

<sup>3</sup> Programa de Enfermería, Universidad Libre, Cali, Colombia

**Introducción.** Colombia es un país con problemas de sobrepeso y obesidad que, en muchas ocasiones, se deben a malos hábitos alimenticios.

**Objetivos.** Describir la prevalencia del sobrepeso y la obesidad, así como los factores familiares, dietéticos y de actividad física en un grupo de escolares entre los 6 y los 9 años de edad pertenecientes al estrato socioeconómico 4 en Santiago de Cali, Colombia.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio descriptivo de corte transversal en 150 niños de una institución educativa. Los datos sociodemográficos se recolectaron con un instrumento validado previamente. Para el diagnóstico del estado nutricional, se tomaron medidas antropométricas y se analizaron con el programa Anthro Plus de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se detectaron 62 niños con sobrepeso u obesidad.

**Resultados.** En cuanto al diagnóstico nutricional, 42 (28 %) niños tenían sobrepeso y 20 (13 %) obesidad. El 78 % pertenecía a los estratos socioeconómicos 4 y 5. En cuanto a las características familiares, el 47 % tenía un solo hermano y el 25 % correspondía a hijos únicos; el 76 % de las madres y el 70 % de los padres eran profesionales; el 95 % de los niños no hacía actividad física importante.

**Conclusiones.** En el análisis de la asociación entre algunas variables, se evidenció la relación entre el estado nutricional y el número de hermanos; los escolares con mayor prevalencia de sobrepeso u obesidad, con mayor frecuencia eran hijos únicos o tenían solo un hermano. Se estableció asociación con la edad de las madres, especialmente entre los 41 y los 50 años, la escolaridad de los padres, el hecho de tener una ocupación o trabajo fuera del hogar, y la pertenencia a los estratos socioeconómicos 4 y 5.

**Palabras clave:** sobrepeso; obesidad pediátrica; ejercicio físico; clase social; estado nutricional.

### Overweight and obesity: Family factors, diet, and physical activity in school children from middle to high socioeconomic level in Cali, Colombia

**Introduction:** Colombia is a country with overweight and obesity problems, which, in many cases, are due to bad eating habits.

**Objective:** To describe the prevalence of overweight and obesity, as well as family, dietary, and physical activity factors in a group of schoolchildren between 6 and 9 years old from socioeconomic level 4 in Cali, Colombia.

**Materials and methods:** This was a descriptive cross-sectional study of 150 children from an educational institution in Cali. To collect the sociodemographic data we used a previously validated instrument; the anthropometric measurements were analyzed to diagnose the nutritional status in the World Health Organization (WHO) Anthro Plus program program. A total of 62 children were identified as overweight and obese.

**Results:** Regarding the nutritional diagnosis, 42 (28%) children were overweight and 20 (13%) were obese; 78% belonged to socioeconomic levels 4 and 5. As for the family characteristics, 47% had only one sibling and 25% were only children; 76% of the mothers and 70% of the fathers were professionals; 95% of the children did not do significant physical activity.

**Conclusions:** Our analysis showed an association between the nutritional status and the number of siblings; schoolchildren with a higher prevalence of overweight or obesity tended to be only children or have just one sibling. We also found associations between mothers' age, especially at ages 41-50 years, parents' schooling and whether they had an occupation or job outside the home, as well as belonging to socioeconomic levels 4 and 5.

**Keywords:** Overweight; pediatric obesity; exercise; social class; nutritional status.

**Recibido:** 16/11/2021

**Aceptado:** 26/01/2022

**Publicado:** 31/01/2022

#### Citación:

Herrera A, Sarmiento C. Sobrepeso y obesidad: factores familiares, dietéticos y de actividad física en escolares de una institución educativa de estrato medio-alto en Cali, Colombia. *Biomédica*. 2022;42:100-15.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.6396>

#### Correspondencia:

Adela Herrera, Carrera 144 N° 5C-190, Casa 4, Solares Pance, Cali, Colombia  
Teléfono: (315) 492 8228  
adelaisa@yahoo.es

#### Contribución de los autores:

Ambas autoras participaron en la elaboración del protocolo, la validación del formulario de recolección de datos, los análisis y la escritura del documento final.

#### Financiación:

Este proyecto de investigación fue financiado por la Universidad Libre de Cali, Colombia, al ganar una convocatoria interna de la institución.

#### Conflicto de intereses:

Declaramos que no existe ningún conflicto de intereses.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la obesidad es el aumento anormal de la grasa corporal (1,2). El sobrepeso se define como un aumento global de peso (3), y la obesidad ha pasado a ser una alteración compleja en la que influyen factores físicos, psicológicos, biológicos, genéticos, sociales, económicos, culturales y ambientales.

A nivel mundial, el 10 % de los menores entre los 5 y los 17 años tiene sobrepeso y entre el 2 y el 3 % es obeso (4,5). En el 2008, casi el 17 % de los niños y adolescentes entre los 2 y los 19 años eran obesos y, en Colombia, la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional (ENSIM, 2015) (6), registró 24,4% de exceso de peso en escolares, incluidos el sobrepeso (16,8 %) y la obesidad (7,6 %).

Las tasas de prevalencia varían considerablemente entre regiones, siendo mayores en América. La problemática es cada vez mayor y ha llevado a la OMS a considerar esta situación como una epidemia global (7). A nivel mundial, entre 40 y 50 millones de niños en etapa escolar son obesos y 200 millones están con sobrepeso, lo que representa el 10 % de todos los niños en el mundo (8).

Las causas de morbilidad en Colombia han cambiado con el aumento de las enfermedades crónicas no transmisibles y la modificación de los estilos de vida, la adopción de patrones inadecuados de alimentación, y la aparición de enfermedades como el sobrepeso y la obesidad infantil (9).

Según la OMS, el diagnóstico de sobrepeso en niños mayores de 5 años con base en la actualización de las curvas existentes, se establece cuando el índice de masa corporal (IMC) está por encima de una desviación estándar y menos de dos, y el de obesidad, cuando está por encima de dos desviaciones estándar. Este IMC elevado puede determinar la adiposidad en la vida adulta y se asocia con una elevada morbilidad en estas poblaciones (10).

Es importante y necesario tener datos actualizados y propios de la región para poder establecer estrategias de manejo que arrojen resultados y contribuyan a disminuir y prevenir este fenómeno que repercute en la aparición de enfermedades en la edad adulta (11). La alteración de los factores dietéticos, acompañada de un patrón disminuido de actividad física con mayor sedentarismo, se cuentan entre las causas más importantes del aumento de la obesidad (4,9,12).

Aunque hay muchos estudios sobre el aumento de este problema (13), es importante insistir en la intervención desde la infancia y trabajar sobre las causas de la situación, involucrando a los padres, las instituciones educativas, los docentes, la industria y los medios de comunicación, con el fin de articular las acciones (12) y contribuir a disminuir los gastos que este problema de salud pública genera a la sociedad y a las familias. Deben dejarse de lado las acciones aisladas y poco estructuradas que apenas brindan información sobre la promoción de estilos de vida saludables, desconociendo el contexto en los que se desarrollan los niños (7,14).

En el presente estudio, se describió la prevalencia de sobrepeso y obesidad en un grupo de escolares, así como los factores sociales, familiares, dietéticos y de actividad física, abordándose este problema de salud pública en un contexto real.

## **Materiales y métodos**

Se hizo un estudio descriptivo de corte transversal en una población compuesta por 150 niños entre los 6 y los 9 años de los grados segundo a quinto de primaria, escogidos por conveniencia. Para el cálculo de la muestra, se tuvo en cuenta la prevalencia de sobrepeso y obesidad en Colombia.

Se detectaron 42 niños con sobrepeso y 20 con obesidad, y se determinaron el sexo, el grado escolar, la edad de la madre, el número de hermanos, la ocupación y profesión de los padres, y el estrato socioeconómico. Para aceptar la hipótesis nula, se consideró un nivel de significación del 5 % con el fin de garantizar una mayor confiabilidad de los resultados.

### **Análisis estadístico**

La institución educativa se seleccionó entre dos colegios de estrato medio a alto de Cali, teniendo en cuenta su mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños con mayores índices de riqueza (15). Siguiendo los datos de la última encuesta en Colombia (6), el estrato socioeconómico se estableció con base en la zona en donde se encontraban ubicados el colegio y la vivienda de los niños.

Para determinar los factores sociales y familiares de los escolares con sobrepeso y obesidad, se preguntó a cada participante sobre las siguientes características sociales y familiares, las cuales se confirmaron en los archivos de la institución educativa: edad de los padres, profesión, ocupación, estrato socioeconómico de la vivienda y número de hermanos, tiempo frente a pantallas y actividad física diaria. Se preguntó, también, por el consumo de alimentos en la dieta diaria y su frecuencia.

La entrevista se hizo utilizando ejemplos y material didáctico apropiado para explicar de manera clara en el lenguaje propio de los niños todo lo relacionado con el consumo, la frecuencia y el tipo de alimentos; también, se utilizaron imágenes de diferentes tamaños para precisar el consumo, para lo cual se contó con la ayuda de una nutricionista experta, en tanto que una enfermera profesional tomó las medidas antropométricas de peso y talla; estas profesionales estaban debidamente entrenadas. En la toma de las medidas antropométricas, se emplearon balanzas digitales calibradas con una precisión de 0,1 kg y un tallímetro fijo muy bien colocado para disminuir los sesgos de información y lograr una mayor confiabilidad de los datos. Esta información se diligenció en un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos validado en un estudio previo de una de las investigadoras (16).

Para comparar las proporciones en el cálculo de la frecuencia de los grupos de alimentos, se utilizó la prueba de ji al cuadrado; la frecuencia de alimentos se estableció como diaria, semanal o mensual y estos se clasificaron en 17 grupos tomados como referencia de las ENSIM 2015 (6) y 2010 (17).

Se hizo un análisis de correlación y asociaciones para identificar los factores sociales, familiares y dietéticos, y su relación con la obesidad y el sobrepeso, además de asociaciones estadísticas de algunas de las variables del estudio utilizando la prueba de independencia con un alfa de 0,05 para obtener resultados de mayor confiabilidad. Para el análisis de la información antropométrica, los datos de cada participante se ingresaron al programa AnthroPlus de la OMS (18).

En cuanto a la valoración del estado nutricional de los escolares, se utilizaron las guías del Ministerio de Protección Social de Colombia (19) y los patrones de crecimiento de la OMS. Según el IMC, se consideró: delgadez, como uno menor de 2 desviaciones estándar (DE); riesgo de delgadez, entre -2 y <1 DE, adecuado para la edad, entre -1 y 1, sobrepeso, entre >1 y 2, y obesidad, como >2 DE.

En cuanto a los patrones de actividad física de los escolares con sobrepeso y obesidad, se determinó la frecuencia como diaria, semanal o mensual. Se estableció el número de veces por semana y el tiempo frente a las pantallas de televisión, computador o videojuegos. En general, la actividad física se categorizó como: “casi nunca,” si era menos de dos veces por semana; “algunas veces,” si era más de dos veces por semana, y “siempre,” si era salir a algún tipo de actividad, por lo menos, una hora tres veces a la semana.

La captura de los datos se hizo con el programa Epi Info 7. En el análisis de los datos descriptivos e inferenciales, se usó el programa IBM SPSS™, versión 23. Se hizo el análisis bivariado para las variables continuas buscando diferencias significativas mediante la prueba t, con un nivel de significación de  $p < 0,05$ . Se utilizó la prueba de ji al cuadrado para comparar las proporciones y para aceptar la hipótesis nula, considerando un nivel de significación del 5 % para una mayor confianza en los resultados.

### **Consideraciones éticas**

El estudio contó con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad Libre, seccional Cali, además de la autorización del rector y los directivos y la colaboración de los profesores de la institución educativa, así como de los padres que aceptaron la participación de sus hijos, a quienes se les leyó y explicó el documento del consentimiento informado para su posterior su firma.

Se cumplió el principio bioético de protección, respeto y autonomía de los niños participantes con la firma del documento de asentimiento informado una vez lo comprendieron y se resolvieron todas sus inquietudes. Se respetó, asimismo, la privacidad de los datos.

### **Resultados**

La población estudiada incluyó 150 menores, 96 niños y 54 niñas, de una institución educativa privada; el 40 % estaba en primer grado y la edad promedio era de 8 años. El 78 % pertenecía a los niveles socioeconómicos 4 y 5. El rango de edad más frecuente en los padres fue entre los 40 y los 50 años para ambos sexos: padres, 55 %, y madres, 57 %. En cuanto al número de hermanos, el 47 % tenía un solo hermano y el 25 % correspondía a hijos únicos. En lo que respecta al nivel de escolaridad de los padres, el 76 % de las madres y el 70 % de los padres eran profesionales; el 80 % de las madres y el 90 % de los padres trabajaban fuera del hogar (cuadro 1).

En cuanto al diagnóstico nutricional, se encontraron 42 niños con sobrepeso, 20 con obesidad y el 50 % de la población tenía un estado nutricional normal. La prevalencia de sobrepeso y obesidad de toda la población fue del 41 %, la frecuencia total de sobrepeso era del 28 % y la de obesidad del 13 %; el 8 % de los niños estaba en riesgo de delgadez y el 1 % presentaba delgadez.

**Cuadro 1.** Caracterización sociodemográfica de la población total de estudio (N=150)

<b>Características de los niños y padres encuestados</b>	<b>n</b>	<b>(%)</b>
<b>Sexo</b>		
Masculino	96	64
Femenino	54	36
<b>Estrato</b>	31	21
3	47	31
4	70	47
5	2	1
6		
<b>Grado escolar del niño</b>		
Primero	45	30
Segundo	21	14
Tercero	33	22
Cuarto	26	17
Quinto	25	17
<b>Edad del padre (años)</b>		
35 a 40	36	24
41 a 50	83	55
51 a 59	14	9
>60	17	11
<b>Edad de la madre (años)</b>		
35 a 40	32	21
41 a 50	85	57
51 a 59	18	12
>60	15	10
<b>Número de hermanos</b>		
Ninguno	38	25
Al menos uno	71	47
2 o más	41	27
<b>Ocupación de la madre</b>		
Trabajo en casa	30	20
Trabajo fuera de casa	120	80
<b>Escolaridad de la madre</b>		
Profesional	114	76
No profesional	36	24
<b>Ocupación del padre</b>		
Trabajo en casa	15	10
Trabajo fuera de casa	135	90
<b>Escolaridad del padre</b>		
Profesional	105	70
No profesional	45	30
<b>Diagnóstico nutricional</b>		
Delgadez	1	1
Normal	75	50
Obesidad	20	13
Riesgo de delgadez	12	8
Sobrepeso	42	28
<b>Actividad física</b>		
Casi nunca	7	5
Algunas veces	108	72
Siempre	35	23

La frecuencia del consumo de alimentos se determinó como diaria, semanal y mensual, y los datos obtenidos se compararon con los de la ENSIN 2015 (6) por periodicidad diaria. Entre los alimentos de mayor consumo diario, se encontraron cereales y sus derivados (91 %), jugos de caja y gaseosas (88 %), y dulces y golosinas (88 %). Los grupos de alimentos que no se consumían de manera diaria incluyeron vegetales (93 %), hígado y vísceras (93 %), aceite y grasas (84 %), carne, pollo y pescado (59 %) (cuadro 2).

**Cuadro 2.** Frecuencia diaria de consumo de los alimentos en los escolares comparados con la ENSIN 2015

Alimentos	Consumo diario escolares (%)	Consumo diario ENSIN/2015 (%)
Leche y derivados lácteos	66	91,0
Carnes (pollo, pescados)	41	94,0
Huevos	61	97,0
Vísceras	7	33,0
Frutas	16	85,0
Verduras	7	69,9
Dulces y golosinas	88	89,0
Paquetes	47	82,5
Embutido	32	78,0
Comida chatarra	45	57,5

En el cuadro 2 aparecen los resultados que se compararon con los de la ENSIN 2015 (6). Se encontró un consumo muy bajo de vísceras (7 %) comparado con el porcentaje para Colombia (33 %); un consumo de frutas del 16 % comparado con el 85 % en la encuesta nacional y un consumo diario de verduras del 7 % frente al 69,9 % nacional, lo que refleja los inadecuados hábitos alimentarios y el consumo de pocos alimentos ricos en micronutrientes. Se encontró consumo de comida chatarra en el 45 %, de paquetes en el 47 %, y de embutidos en el 32 %, comparado con el 57,5, el 82,5 y el 78 %, respectivamente, del consumo diario registrado en la ENSIN 2015 (6). La prevalencia de sobrepeso y obesidad presentaron una alta correlación con el consumo diario de cereales y derivados (91 %), y jugos de caja y gaseosas (88 %); además, se encontró una fuerte asociación entre el sobrepeso y el consumo de jugos naturales (68 %). También, se pudo observar un consumo diario de lácteos del 66 %, siendo más bajo que el de la ENSIN 2015 (91 %) (6) (cuadro 2).

En el análisis de correlación, que mide la asociación de interdependencia entre las variables relacionadas (cuadro 3), se encontró una relación con el número de hermanos, es decir, los escolares con mayor prevalencia de sobrepeso u obesidad tendían a ser hijos únicos o a tener solo un hermano; también, se asociaron la edad de la madre, en especial cuando era mayor de 50 años, la escolaridad de los padres, su ocupación o trabajo fuera del hogar, y la pertenencia a los estratos socioeconómicos 4 y 5.

La relación con la edad de la madre ( $p=0,035$ ) fue significativa (cuadro 4), así como con el número de hermanos ( $p=0,001$ ), que fue significativa cuando no había hermanos o solo uno. También, hubo asociación con los alimentos de mayor consumo diario y semanal, y en cuanto al consumo diario de lácteos, fue tan solo del 66 %, siendo muy bajo en comparación con lo registrado en la ENSIN 2015 (91 %) (6).

En lo referente a los patrones de actividad física, definida como salir a ejercitarse de alguna manera, por lo menos, una hora tres veces a la semana, se encontró que el 95 % de los niños casi nunca lo hacían (cuadro 5). La actividad física más frecuente fue montar en bicicleta (80 %), pero menos de dos veces por semana; nadar (77 %), aunque el 68 % lo hacía menos de dos veces por semana, y saltar o correr (73 %), pero 45 % de ellos lo hacía menos de dos horas y solo el 21 % más de cinco veces por semana. En cuanto a los deportes con importante gasto calórico, como el baloncesto y el fútbol, los niños los practicaban menos de dos veces por semana: baloncesto (53 %) y fútbol (37 %).

**Cuadro 3.** Asociación entre las variables sociodemográficas, y el sobrepeso y obesidad

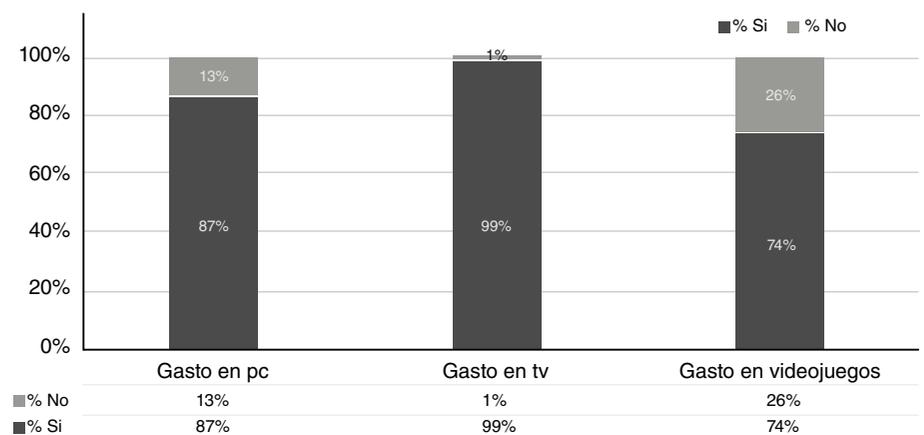
Variable	Niños con sobrepeso u obesidad	n	(%)
Sexo			
Niños	39	63	0,842
Niñas	23	37	
Grado			
Primero	25	40	0,234
Segundo	9	15	
Tercero	13	21	
Cuarto	7	11	
Quinto	8	13	
Edad de la madre			
35 a 41	12	19	0,035
41 a 50	40	65	
51 a 59	5	8	
> 60	5	8	
Número de hermanos			
Ninguno	21	34	0,001
Al menos uno	22	35	
2 o más	19	31	
Ocupación del padre			
Trabajo en casa	13	21	
Trabaja fuera de casa	49	79	0
Escolaridad del padre			
No profesional	18	29	
Profesional	44	71	
Ocupación de la madre			
Trabajo en casa	19	31	0,756
Trabajo fuera casa	43	69	
Escolaridad			
No profesional	20	33	
Profesional	42	67	
Estrato			0,025
3	16	26	
4	23	31	
5	21	47	
6	2	3	

**Cuadro 4.** Correlación y evidencia entre la asociación del sobrepeso y la obesidad con las variables estudiadas

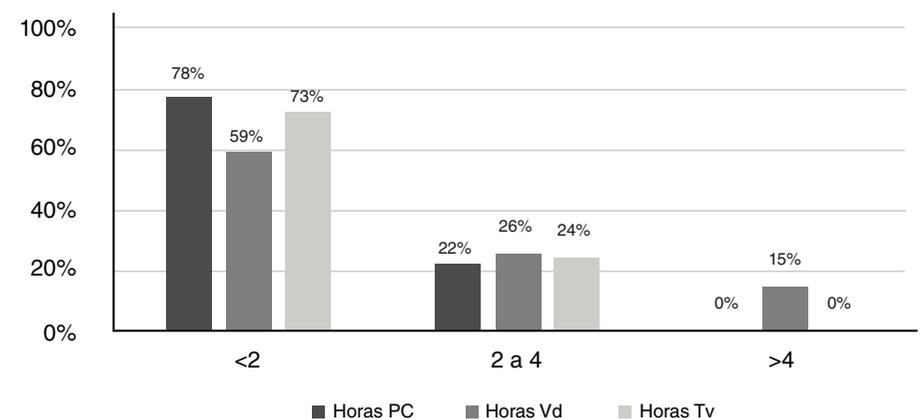
Variable	p	Conclusión
Edad de la madre	0,035	Existe evidencia para aceptar que hay asociación entre el sobrepeso y la edad de la madre.
Sexo del estudiante	0,842	No hay evidencia para aceptar que exista asociación entre el sobrepeso y el sexo del menor.
Número de hermanos	0,001	Existe evidencia.
Consumo de cereales	0,0246	Existe evidencia.
Comidas rápidas	0,0367	Existe evidencia.
Jugos empacados y jugos naturales	0,001	Existe evidencia.
Grasas	0,0191	Existe evidencia.
Azúcares	0,000	Existe evidencia.
Profesión de la madre	0,756	No existe evidencia.
Profesión del padre	0,001	Existe evidencia.

**Cuadro 5.** Actividad física y dedicación (número de veces) por semana en los escolares

Actividad	Nunca		1 a 2		3 a 4		> 5	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Saltar la cuerda	25	41	32	51	1	1	4	7
Patinaje en línea	41	66	19	31	2	3		0
Caminar como ejercicio	42	67	19	31		0	1	2
Montar bicicleta	12	20	45	72	1	1	4	7
Saltar o correr	17	27	28	45	4	6	13	21
Ejercicios aeróbicos	41	66	19	31	1	1	1	2
Nadar	14	23	42	68	6	9		0
Bailar	32	51	30	49		0		0
Patinar en monopatín	37	59	23	37	1	1	1	2
Jugar fútbol	23	37	23	37	6	9	10	6
Jugar voleibol	23	37	23	37	6	9	10	17
Jugar baloncesto	28	45	33	53	1	2		0
Artes marciales (karate, taekwondo)	42	67	18	29	1	1	1	2



**Figura 1.** Frecuencia en gasto de tiempo frente a pantallas de computador, televisión y videojuegos



**Figura 2.** Frecuencia y número de horas frente a pantallas de computador, televisión y videojuegos

También, se encontró que el 87 % dedicaba tiempo al computador, el 99 % veía (figura 1). Con respecto al número de horas dedicadas a las pantallas, el 78 % permanecía en promedio menos de dos horas frente a estas, cifras que supera la de la última encuesta para Colombia (6), con una prevalencia del 67 %. El 26 % y el 24 % de los niños dedicaba más tiempo a los videojuegos y la televisión: entre 2 y 4 horas, respectivamente, es decir, el porcentaje de niños que pasaba tiempo frente a las pantallas fue alto, pero al preguntar por el número de horas al día, estas cifras disminuían (figura 2).

## Discusión

La prevalencia encontrada del 41 % de sobrepeso y obesidad se considera demasiado alta, y obliga a plantear estrategias de intervención con base en los datos reales, actualizados y concretos de la región para modificar los estilos de vida de la población infantil.

En cuanto a las características familiares, los niños con exceso de peso pertenecían a los estratos socioeconómicos 4 y 5 (78 %), lo que demuestra, como lo han mencionado otros estudios (20), que los mayores ingresos favorecen o se asocian con sobrepeso y obesidad, así como la asociación con el número de integrantes de la familia y con ser hijo único o tener solo un hermano (1).

Este hallazgo es importante porque en diversos estudios se han registrado datos controvertidos en cuanto al hecho de que el “tener familias con menos de cinco integrantes representa un mayor riesgo de sufrir exceso de peso” (21-23), pues los padres con mayores posibilidades de adquisición y distribución de recursos para el hogar y las madres con edades entre los 41 y los 50 años, tienen mayor posibilidad de que sus hijos tengan exceso de peso, como lo evidenciaron los resultados de este estudio.

Asimismo, influyeron el nivel socioeconómico, el número de integrantes del hogar, la escolaridad y la ocupación de los padres: el 71 % de los padres eran profesionales y el 79 % de las madres trabajaba fuera de casa, condiciones que limitan el tiempo de que disponen para el cuidado de los hijos, pues deben dejarlos a cargo de otro adulto, como lo estableció un estudio sobre los estilos de crianza y su relación con la obesidad (1). Este aspecto podría impedir que las madres promuevan en su hijo las preferencias y puntos de vista que favorecen su crianza, aunque en el presente estudio se consideró que esta hipótesis debería comprobarse. Esto, aunado al sedentarismo de gran parte de los menores estudiados, que no practicaban actividades físicas con gasto calórico importante, o lo hacían muy poco, favorece la aparición del exceso de peso.

En resumen, el presente estudio encontró una prevalencia de obesidad en la población estudiada del 13 % frente al 7,6 % de la ENSIN 2015 (6). La proporción de sobrepeso fue del 28 % frente al 16,8 % en la ENSIN 2015 (6), lo que indica una elevación del 67 % en este mismo grupo de edad. El total del exceso de peso fue del 41 % frente al 24,4 % en la ENSIN 2015 (6), es decir, un incremento del 170,8 % que, a pesar del tamaño reducido de la muestra, ubica al país como una de las regiones con cifras más elevadas de exceso de peso en este grupo de edad en América, y alerta sobre las comorbilidades que pueden presentarse a mediano y largo plazo como consecuencia de esta alta prevalencia (22,23). Las variaciones en cuanto a las prevalencias se registran en diversas regiones del mundo, por ejemplo, en México, la población en edad escolar ha presentado valores de sobrepeso y obesidad del 34,4 % (24).

En cuanto al índice de riqueza en estratos medios y altos, según la ENSIN 2015 (6), la prevalencia fue del 31,6 %, muy por debajo de las cifras encontradas en este estudio, lo que significa que estos porcentajes en escolares de Cali siguen siendo muy elevados y muy por encima de otros países latinoamericanos (22,25), lo que obliga a revisar las estrategias de intervención en esta etapa del ciclo vital. En uno de los últimos estudios realizados en el departamento del Valle, (26), en una muestra de 1.789

escolares de instituciones del sector público, se encontró una prevalencia del 14,7 % de sobrepeso y del 6,3 % de obesidad, valores por debajo de la mitad de los datos encontrados en este estudio. Tarqui-Mamani, *et al.* (22), encontraron que un mayor nivel socioeconómico o la ausencia de la condición de pobreza se asociaban con una mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad.

Por otra parte, la estructura familiar de un solo hijo o pocos miembros en la familia se asoció con la prevalencia del exceso de peso, lo que coincide con los resultados de un estudio en Perú (22), pero difiere del todo de lo hallado en uno realizado en Cartagena, Colombia (21), en el que se evidenció que un mayor número de integrantes en la familia disminuía el riesgo de exceso de peso. De todas maneras, se encontró que los abuelos son quienes más tiempo dedican al cuidado de los niños y, en otros casos, estos viven con, al menos, uno de los abuelos, lo que puede contribuir a comportamientos que propician la obesidad e implicaría una influencia negativa del entorno familiar, ya que los comportamientos de salud de los niños pueden ser modelados por los patrones de los padres y los demás miembros de la familia (27,28).

En otro estudio en Argentina (29) entre escolares pertenecientes a un estrato socioeconómico alto, se encontró una mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad a medida que el índice de riqueza aumentaba, y lo mismo ocurrió en varios estudios en Brasil (30,31) en los que se concluyó que, a pesar de que el sobrepeso y la obesidad aumentaron en todas las clases sociales, fue mayor en los hogares con más poder económico. Según otros estudios (1,32), las condiciones económicas de las familias aparecen como un factor asociado con la obesidad infantil, así como las formas de autoridad de los padres, que, de no modificarse, propiciarían conductas en el niño que persistirían, incluso, en la adultez.

Es importante revisar y ampliar los estudios sobre el sobrepeso y la obesidad en el contexto familiar, pues allí se desarrollan los hábitos alimentarios. Deben analizarse los factores paternos y socioculturales, la relación con la ocupación de los padres y su escolaridad, y la forma como les explican a sus hijos sus eventuales problemas de peso e inciden en su dieta, para así comprender el efecto en el riesgo de obesidad. Como se menciona en el estudio de Montiel, *et al.* (1), deben evaluarse otras características de las familias, entre ellas, el apoyo social al niño, la posibilidad de un trabajo estable de los padres y, especialmente en el caso de la madre, uno que le permita estar en casa. También, debería indagarse sobre las costumbres de los padres y las circunstancias que inciden en su adquisición, así como las estrategias que utilizan las madres para manejar las prácticas de alimentación (33).

Al analizar la frecuencia de consumo en el grupo de escolares estudiados, se encontró una proporción de ingestión diaria de huevo (61 %) menor de la reportada en la ENSIN 2015 (97 %) (6). Según las guías alimentarias de Colombia (34), se recomienda incluir el huevo en la dieta diaria, ya que en los metaanálisis se han demostrado sus beneficios. Se le considera un constituyente esencial en la dieta de las personas en todas las etapas de la vida y podría tener un papel aún más importante en aquellas con mayores necesidades nutricionales, como la infancia, el embarazo y la tercera edad (35,36). Se encontró, asimismo, un consumo de lácteos y derivados del 66 %, por debajo del promedio nacional del 91 %. La ausencia de algunos alimentos esenciales en el menú diario tendría como consecuencia el déficit de algunos micronutrientes.

En cuanto al consumo de vísceras, se encontró una proporción tan solo del 7 %, muy por debajo del promedio registrado en la ENSIN 2015 (33 %) (6). Esto es muy relevante, si se tiene en cuenta la importancia de estos alimentos por su alto contenido de hierro, sobre todo el de origen animal, y su aporte en la disminución de la prevalencia de anemia, la cual es del 8 % en estos grupos de edad en el país (6). En el estudio, el consumo de carnes rojas se daba en el 79 % de los niños, muy por debajo del promedio nacional (93,5 %) y de lo hallado en otros estudios (37). Debe anotarse que, aunque hay controversia sobre el consumo diario de carnes rojas, en salud pública se recomienda disminuir su consumo, pero no eliminarlas de la dieta dado su gran valor nutricional como fuente de aminoácidos esenciales difíciles de cubrir solo con alimentos de origen vegetal.

El promedio de consumo de pescado en nuestro estudio fue del 71,5 %, por encima del 54,5 % reportado en la ENSIN 2015 (6). Se sabe que el pescado contiene nutrientes como el cinc y, en algunos casos, el omega 3, esenciales para el sistema cardiovascular y, dado que el organismo no los sintetiza, es importante su consumo en la dieta diaria (38).

También, se encontró que el 91 % de los niños del estudio no consumían verduras y la proporción del consumo de frutas era del 68 %, muy por debajo del promedio nacional del 69,9 y 85 %, respectivamente, en tanto que la proporción de la ingestión de dulces y golosinas estuvo muy cerca de dicho promedio (88 %). Este es un elemento que contribuye al aumento del contenido calórico de la dieta diaria y tiene una asociación positiva con la aparición del sobrepeso y la obesidad (39). Aunque los carbohidratos constituyen, por lo menos, las dos terceras partes de la alimentación, se recomienda controlar su consumo, especialmente de los simples, y aumentar el de los carbohidratos complejos (40). Por otra parte, el consumo de comidas rápidas fue del 45 %, por debajo del promedio nacional del 57,5 %, lo que permite concluir que, aunque se trataba de un grupo con recursos suficientes, estas no hacían parte de la dieta diaria de un porcentaje importante de los niños.

El consumo de comidas de paquete estuvo muy por debajo del promedio nacional, con una proporción del 47 % frente al 82,5 %, es decir que a pesar de las prevalencias elevadas de sobrepeso y obesidad en este grupo y su comprobada asociación con el consumo de alimentos empaquetados (41), en el estudio no se observó dicha relación; además, en el colegio no se ofrecían estos alimentos a los estudiantes.

En la etapa escolar, un período en el que se establecen de manera definitiva los hábitos alimenticios y se consolidan las preferencias de alimentos en la dieta y las pautas del posterior comportamiento nutricional en la vida adulta, es importante hacer el seguimiento e intervenir adecuada y oportunamente para evitar posibles desviaciones y promover buenos patrones de consumo para la adultez. Se sabe que uno de los riesgos de la obesidad infantil radica en el desarrollo de comorbilidades y que el exceso de peso en los primeros cinco años de vida puede mantenerse hasta llegar a la edad adulta en 20 % de los niños, en tanto que, en los adolescentes, este se mantiene hasta en el 80 %, con la consecuente elevación de las tasas de morbilidad y mortalidad por enfermedades cardiovasculares y otras (42,43).

Los profesores también tienen un papel importante en el establecimiento de los hábitos alimenticios, ya que el niño pasa gran parte del día en el colegio. Por ello, los centros educativos deben ser promotores de salud con base en las estrategias internacionales sobre alimentación saludable (44). En

las tiendas escolares deben promoverse los cambios en los hábitos y ofrecer alimentos de calidad nutricional; además, debe incentivarse la práctica de actividades físicas adecuadas en las escuelas.

Los resultados del estudio pueden parecer controversiales frente a los de otros en que el sobrepeso y la obesidad eran mayores en los estratos socioeconómicos bajos por su mayor consumo de carbohidratos y grasas, menor consumo de frutas y verduras, y poca actividad física (45). Una posible explicación sería el mayor poder adquisitivo, que permite más acceso y consumo de alimentos y más dinero para la compra de videojuegos y pantallas, lo que contribuye al sedentarismo. En cuanto a la escolaridad de padre y madre conjuntamente, no hubo asociación significativa, pero sí la hubo ( $p < 0,001$ ) con la escolaridad paterna y con el trabajo fuera de casa (79 % de los padres y 69 % de las madres), lo que coincide con otros estudios publicados (1). La ocupación informal del jefe del hogar se relacionó con una menor prevalencia de sobrepeso, dato controversial como el de la asociación de la educación o nivel de escolaridad de los padres con el estado nutricional de los hijos (46).

A pesar del tamaño reducido de la muestra en el presente estudio, al comparar los resultados con los de la ENSIN 2015 (6), se encontró que en el mismo grupo de edad la proporción del exceso de peso ha variado hacia el ascenso, lo que indica que debería dársele prioridad. En el 2010, la preocupación más importante en cuanto a las alteraciones relacionadas con la alimentación en la infancia era la desnutrición, pero los actuales cambios en el perfil epidemiológico de las poblaciones, el mayor nivel de ingreso y la disminución de la actividad física deben tenerse en cuenta a la hora de evaluar el sobrepeso y la obesidad (22).

En este sentido, es muy importante realizar más estudios representativos en diferentes regiones del país para determinar la prevalencia de sobrepeso y obesidad, y ahondar en las causas que la determinan, con el fin de diseñar intervenciones directas y establecer medidas de prevención primaria orientadas a las causas específicas del problema.

Con respecto a la actividad física, se encontró que el 67 % de los niños ni siquiera cumplía con los niveles mínimos (caminar como ejercicio tres veces a la semana durante una hora o 180 minutos a la semana), es decir, el sedentarismo estaba afianzado y pasaban mucho tiempo frente a las pantallas, sin actividad física que implicara un gasto calórico importante, lo que, comparado con la ENSIN 2015 (6), estuvo muy lejos del promedio nacional. Algunos de los participantes en el estudio hacían ejercicio como saltar, correr o jugar baloncesto, pero sin la periodicidad en horas recomendada (cuadro 5).

El tiempo empleado frente a las pantallas fue muy parecido al que prevalecía en el país (6), con cifras elevadas de inactividad física y sedentarismo (47), lo que aumenta el sobrepeso y la obesidad, por lo que debe intervenir (48). Es imprescindible una suficiente disponibilidad de espacios y oportunidades para la actividad física regular en el entorno escolar, pues los niños en estas etapas pasan gran parte del día en la escuela (49). Sin embargo, la práctica de educación física en las escuelas primarias ha disminuido a pesar de las evidencias sobre sus beneficios y las recomendaciones de la OMS (49,50). Por ello, es necesario que las entidades gubernamentales y no gubernamentales intervengan para extender el número de días y horas a la semana dedicadas a la educación física en las escuelas y jardines infantiles (51).

Estos resultados corroboran que el sobrepeso y la obesidad están alcanzando niveles muy elevados en los escolares colombianos y que existe la urgente necesidad de trabajar en grupos interdisciplinarios en torno a cada uno de los factores asociados con el problema, como la alimentación desequilibrada, la actividad física y algunos factores familiares (12). Con los datos específicos que se presentan, puede aproximarse un diagnóstico de la situación actual de la prevalencia del sobrepeso y la obesidad infantiles en este nivel socioeconómico en Cali, y proponer nuevos estudios en la ciudad y el departamento.

### Conclusiones

Se concluyó que la prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población de estudio fue del 41 %: 28 % de sobrepeso y 13 % de obesidad. Se encontró asociación entre algunas variables, como: el número de hermanos (los escolares con mayor exceso de peso tendían a ser hijos únicos o tener solo un hermano); la edad de la madre, especialmente entre los 41 y los 50 años; la escolaridad de los padres y la ocupación o trabajo fuera del hogar, así como la pertenencia a los estratos socioeconómicos 4 y 5. El consumo de lácteos y derivados y el de vísceras estuvieron por debajo del promedio nacional (7 %). El 91 % de los niños consumía verduras, pero solo el 68 % comía frutas en la dieta diaria. Se evidenció un alto consumo de dulces y golosinas. El 67 % no hacía actividad física mínima y pasaba mucho tiempo frente a las pantallas, y el ejercicio con gasto calórico importante era muy limitado.

Se recomiendan los programas de prevención y promoción contra el sobrepeso y la obesidad infantil, sobre todo en los niños en etapa escolar, con diferentes estrategias que propicien una alimentación balanceada y de calidad nutricional, y más tiempo y mayor variedad de actividades físicas y estímulos para conservar el peso adecuado para la edad y la talla, sin llegar a excesos de preocupación por la imagen corporal. En el ámbito escolar, deberían aumentarse las sesiones de actividad física y el desarrollo de habilidades fundamentales de movimiento. Debe procurarse un suministro de alimentos balanceados con una distribución adecuada de macronutrientes y micronutrientes, así como prácticas culturales que incentiven la alimentación saludable y mejores estilos de vida de los niños. Además, debe asegurarse el acceso a gimnasios o campos deportivos en los planteles educativos.

También, debe trabajarse con padres, abuelos, otros familiares y cuidadores, en el mejoramiento de su nivel de actividad física para que sean un ejemplo, y organizar talleres de alimentación saludable y actividades de apoyo en casa que animen a los niños a estar más activos y a pasar menos tiempo frente a las pantallas.

En futuros estudios debe enfatizarse en la descripción de los estilos parentales y de cuidadores, y hacer prácticas de control en el campo para establecer conductas saludables que eviten el desarrollo de la obesidad; además, trabajar en la elaboración de guías de manejo fáciles de aplicar a cargo de profesionales en el manejo integral del niño.

### Referencias

1. Montiel-Carbajal MM, López-Ramírez LF. Parenting styles and their relation with obesity in children ages 2 to 8 years. *Rev Mex Transt Alimen.* 2017;8:11-20.
2. Monteiro CA. Nutrition and health. The issue is not food, nor nutrients, so much as processing. *Public Health Nutr.* 2012;12:729-31. <https://doi.org/10.1017/S1368980009005291>

3. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: International survey. *BMJ*. 2000;320:1240-3. <https://doi.org/10.1136/bmj.320.7244.1240>
4. Owen CG, Martin RM, Whincup PH, Smith GD, Cook DG. Effect of infant feeding on the risk of obesity accros the life course: A quantitative review of published evidence. *Pediatrics*. 2005;115:1367-77. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-1176>
5. Taylor RW, Gray AR, Heath A-LM, Galland BC, Lawrence J, Sayers R, *et al*. Sleep, nutrition, and physical activity interventions to prevent obesity in infancy: Follow-up of the Prevention of Overweight in Infancy (POI) randomized controlled trial at ages 3.5 and 5 y. *Am J Clin Nutr* 2018;108:228-36. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy090>
6. ICBF, MSPS, INS, DAPS. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional (ENSIN 2015). Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <https://bit.ly/3vUDziP>
7. World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2000;894:i-xii, 1-253. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <https://bit.ly/3wST4Jr>
8. International Association for the Study of Obesity. Obesity: Understanding and challenging the global epidemic: 2009-2010 report from the International Association for de Study of Obesity. London: IASO, 2011.
9. Fajardo, E, Ángel LA. Prevalencia de sobrepeso y obesidad, consumo de alimentos y patrón de actividad física en una población de niños escolares de la ciudad de Bogotá. *Rev Fac Med*. 2012;2:101-16.
10. Amigo H, Bustos P, Erazo M, Cumsille P, Silva C. Factores determinantes del exceso de peso en escolares: un estudio multinivel. *Rev Med Chile*. 2007;135:1510-8. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872007001200002>
11. Freedman DS, Mei Z, Srinivasan SR, Berenson GS, Dietz WH. Cardiovascular risk factors and excess adiposity among overweight children and adolescents: The Bogalusa Heart Study. *J Pediatr*. 2007;150:12-7. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2006.08.042>
12. Organización Mundial de la Salud. Informe de la comisión para acabar con la obesidad infantil. Ginebra: OMS; 2016. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <https://bit.ly/2SoQqUt>
13. Machado K, Gil P, Ramos I, Pérez C. Sobrepeso/obesidad en niños en edad escolar y sus factores de riesgo. *Arch Pediatr Urug*. 2018;89:S16-S25.
14. Gómez LF, Ibarra ML, Lucumí DI, Arango CM, Parra A, Cadena Y, *et al*. Alimentación no saludable, inactividad física y obesidad en la población infantil colombiana: un llamado urgente al estado y la sociedad civil para emprender acciones efectivas. *Global Health Promotion*. 2012;19:87-92.
15. Miñano-Sandoval VG. Estado nutricional relacionado con el nivel socioeconómico de los escolares de la I.E. Jesús de Nazaret de Poroto, Trujillo, junio-noviembre 2018. Tesis. Trujillo: Universidad César Vallejo; 2018. p. 38.
16. Herrera AI, Rovetto C de, Castaño I de, Martínez AM, Guerrero A. Estado nutricional de niños con enfermedad renal crónica en la consulta de nefrología pediátrica del Hospital Universitario del Valle, Cali. *Colomb Med*. 2009;40:202-12.
17. WHO AnthroPlus. Monitors and analyzes the growth of children. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <https://bit.ly/3y2HhbJ>
18. Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución N° 00002465 de junio 14 de 2016. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <https://bit.ly/3vNDT2R>
19. ICBF. Encuesta Nacional de Situación Nutricional 2010 (ENSIN 2010). Bogotá: Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <https://bit.ly/3d6AT13>
20. Acosta K. La obesidad y su concentración según nivel socioeconómico en Colombia. *Rev Econ Rosario*. 2013;16:171-200.
21. González-Pastrana Y, Díaz-Montes C. Características familiares relacionadas con el estado nutricional en escolares de la ciudad de Cartagena. *Rev Salud Pública*. 2015;17:836-47. <https://doi.org/10.15446/rsap.v17n6.43642>
22. Tarqui-Mamani C, Álvarez-Dongo D, Espinoza-Oriundo P. Prevalencia y factores asociados al sobrepeso y obesidad en escolares peruanos del nivel primario. *Rev Salud Pública*. 2018;20:171-6. <https://doi.org/10.15446/rsap.V20n2.68082>

23. Guimarães LV, Barros MB, Martins MS, Duarte EC. Fatores associados ao sobrepeso em escolares. *Rev Nutr.* 2006;19:5-17.
24. Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados por entidad federativa y nutrición. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <https://bit.ly/3zWUIAO>.
25. Miranda J, Palmeira M, Polito L, Brandão MR, Bocalini D, Junior A, *et al.* Prevalência de sobrepeso e obesidade infantil em instituições de ensino: públicas vs. privadas. *Rev Bras Med Esporte* 2015;21:104-7.
26. Cubides-Munévar ÁM, Moreno FO, Guarín J, Barros GI, Villamarín EA, Hernández-Carrillo M. Estado nutricional en escolares del Valle del Cauca. Año 2012. *Rev Colomb Salud Libre.* 2014;9:84-90.
27. Li B, Adab P, Cheng KK. The role of grandparents in childhood obesity in China - evidence from a mixed methods study. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2015;12:91. <https://doi.org/10.1186/s12966-015-0251-z>
28. Berge JM, Rowley S, Trofholz A, Hanson C, Rueter M, MacLehose RF, *et al.* Childhood obesity and interpersonal dynamics during family meals. *Pediatrics.* 2014;134:923-32. <https://doi.org/10.1542/peds.2014-1936>
29. Juiz de Trogliero C, Morasso M del C. Obesidad y nivel socioeconómico en escolares y adolescentes de la ciudad de Salta. *Arch Argent Pediatr.* 2002;100:360-6.
30. Ricardo GD, Zolet KE, Monte FG, Quites MP, Carvalho T. Prevalências de sobrepeso e de obesidade em estudantes de escolas pública e privada de Florianópolis, SC. *Rev Bras Ativ Fis Saúde.* 2007;12:162.
31. Zago Júnior C, Rodrigues AA, Braga LES, Filocomo M, Zamai C. Perfil nutricional de crianças de 6 a 11 anos de uma escola. *Rev Bras Ativ Fis Saúde.* 2007;12:159.
32. Vollmer RL, Mobley AR. Parenting styles, feeding styles, and their influence on child obesogenic behaviors and body weight. A review. *Appetite.* 2013;71:232-41. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2013.08.015>
33. Hughes SO, Frankel LA, Beltran A, Hodges E, Hoerr S, Lumeng J, *et al.* Food parenting measurement issues: Working group consensus report. *Child Obes.* 2013;9:S95-102. <https://doi.org/10.1089/chi.2013.0032>
34. ICBF, FAO. Guías alimentarias basadas en alimentos para la población colombiana mayor de 2 años. 2015. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <https://bit.ly/3j84h4L>
35. Shin JY, Xun P, Nakamura Y, He K. Egg consumption in relation to risk of cardiovascular disease and diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2013;98:146-59. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.051318>
36. Rong Y, Chen L, Zhu T, Song Y, Yu M, Shan Z, *et al.* Egg consumption and risk of coronary heart disease and stroke: Dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ.* 2013;346:e8539. <https://doi.org/10.1136/bmj.e8539>
37. Wyness L. The role of red meat in the diet: nutrition and health benefits. *Proc Nutr Soc.* 2016;75:227-32. <https://doi.org/10.1017/S0029665115004267>
38. Paulo AZ, Amancio OMS, de Morais MB, Tabacow KMMD. Low-dietary fiber intake as a risk factor for recurrent abdominal pain in children. *Euro J Clin Nutr.* 2006;60:823-7. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602386>
39. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Consumo de alimentos y bebidas ultra-procesados en América Latina: tendencias, impacto en obesidad e implicaciones de política pública. 2016. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <https://bit.ly/3wUig28>
40. Jebb SA. Carbohydrates and obesity: From evidence to policy in the UK. *Proc Nutr Soc.* 2015;74:215-20. <https://doi.org/10.1017/S0029665114001645>
41. Daepp MI, Gortmaker SL, Wang YC, Long MW, Kenney EL. Food package changes: Trends in childhood obesity prevalence. *Pediatrics.* 2019;143:e20182841. <https://doi.org/10.1542/peds.2018-2841>
42. Paajanen TA, Oksala NKJ, Kuukasjärvi P, Karhunen PJ. Short stature is associated with coronary heart disease: A systematic review of the literature and a meta-analysis. *Eur Heart J.* 2010;31:1802-9. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq155>

43. Park MH, Falconer C, Viner RM, Kinra S. The impact of childhood obesity on morbidity and mortality in adulthood: A systematic review. *Obes Rev.* 2012;13:985-1000. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2012.01015.x>
44. Egoavil SM, Yataco AM. Hábitos alimentarios, crecimiento y desarrollo de niños de 3-5 años que asisten a la I.E. "Mi Futuro" - Puente Piedra - 2017. Tesis. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2017.
45. Ogden CL, Lamb MM, Carroll MD, Flegal KM. Obesity and socioeconomic status in children and adolescents: United States, 2005-2008. *NCHS Data Brief.* 2010;50:1-8.
46. Aranceta J, Pérez-Rodrigo C, Serra-Majem L, Bellido D, López-de la Torre M, Formiguera X, *et al.* Prevention of overweight and obesity: A Spanish approach. *Public Health Nutr.* 2007;10:1187-93. <https://doi.org/10.1017/S1368980007000699>
47. Organización Mundial de la Salud. Sobrepeso y obesidad infantiles. 2016. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/es/>
48. Vilchis-Gil J, Galván-Portillo M, Klünder- Klünder M, Cruz M, Flores-Huerta S. Food habits, physical activities and sedentary lifestyles of eutrophic and obese school children: A case-control study. *BMC Public Health.* 2015;15:124-31. <https://doi.org/10.1186/s12889-015-1491-1>
49. Organización Mundial de la Salud. Recomendaciones mundiales sobre actividad física para la salud. 2010. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2018. Disponible en: <https://bit.ly/3j8azkG>
50. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Height and body-mass index trajectories of school-aged children and adolescents from 1985 to 2019 in 200 countries and territories: A pooled analysis of 2181 population-based studies with 65 million participants. *Lancet.* 2020; 96:1511-24. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31859-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31859-6)
51. Pulido-Quintero FJ. El currículum del área de la educación física como promotor de hábitos de vida saludable en escolares del distrito capital: caso Colegio Confederación Brisas del Diamante. Tesis. Bogotá, D.C.: Universidad Santo Tomás; 2016.

Artículo original

## Polimorfismos del gen de la apolipoproteína E en adultos mayores de 60 años con disminución de la memoria cognitiva y enfermedad de Alzheimer en diferentes poblaciones venezolanas

Silvia Martínez<sup>1</sup>, Bárbara Ochoa<sup>2</sup>, María Rafaela Pérez<sup>2</sup>, Fátima Torrico<sup>1</sup>, Ildemaro García<sup>3</sup>, Carmen Cristina García<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

<sup>2</sup> Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

<sup>3</sup> Departamento de Cómputo Científico, Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela

**Introducción.** La enfermedad de Alzheimer constituye un problema de salud pública que tiende a agravarse en el tiempo. Entre los factores genéticos de predisposición más importantes, se encuentra la presencia del alelo  $\epsilon_4$  del gen *APOE* que codifica para la apoproteína E.

**Objetivo.** Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de las isoformas de *APOE* en adultos mayores de 60 años con memoria cognitiva disminuida y Alzheimer, en la gran Caracas y en la comunidad indígena pemón de la zona Kamarata-Kanaimö, Estado Bolívar.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 267 pacientes: 96 controles, 40 con memoria cognitiva disminuida y 108 con Alzheimer procedentes de Caracas, y 23 individuos de Kamarata-Kanaimö. Las isoformas de *APOE* se determinaron con el estuche AP1210Z: Seeplex ApoE genotyping™.

**Resultados.** El alelo  $\epsilon_4$  mostró asociación significativa con la memoria cognitiva disminuida (OR=5,03; IC<sub>95%</sub> 0,98-25,70) y la enfermedad de Alzheimer (OR=5,78; IC<sub>95%</sub> 1,24-26,85). Las frecuencias genotípicas de los grupos de control y con memoria cognitiva disminuida, fueron:  $\epsilon_3/\epsilon_3 > \epsilon_3/\epsilon_4 > \epsilon_2/\epsilon_4 > \epsilon_3/\epsilon_2 > \epsilon_4/\epsilon_4$ , y las del grupo con Alzheimer:  $\epsilon_3/\epsilon_3 > \epsilon_3/\epsilon_4 > \epsilon_4/\epsilon_4 > \epsilon_2/\epsilon_4 > \epsilon_3/\epsilon_2$ . En Kamarata-Kanaimö, el orden fue  $\epsilon_3/\epsilon_3 > \epsilon_3/\epsilon_4 > \epsilon_4/\epsilon_4$  y no se encontró el alelo  $\epsilon_2$ .

**Conclusiones.** Las frecuencias alélicas y genotípicas de *APOE* en la muestra tuvieron una distribución similar a la de otros estudios en Venezuela y las Américas. La ausencia del alelo  $\epsilon_2$  en la comunidad indígena de Kamarata-Kanaimö amerita mayor investigación. Se constató la asociación positiva del alelo  $\epsilon_4$  en personas con la enfermedad de Alzheimer y con memoria cognitiva disminuida. Conocer precozmente los pacientes portadores de este alelo puede ayudar a establecer medidas preventivas en nuestra población.

**Palabras clave:** enfermedad de Alzheimer; disfunción cognitiva; demencia; apolipoproteína E4; Venezuela.

### Apolipoprotein E polymorphisms in adults over 60 years of age with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease in different Venezuelan populations

**Introduction:** Alzheimer's disease represents a serious public health problem that tends to worsen over time. Among the most important genetic predisposing factors is the presence of the  $\epsilon_4$  allele of the apoprotein E gene (*APOE*).

**Objective:** To determine the allelic and genotypic frequencies of the *APOE* isoforms in adults over 60 years old with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease in Gran Caracas and in the indigenous Pemón community of the Kamarata-Kanaimö area, Bolívar State.

**Materials and methods:** We studied 267 patients: 96 controls, 40 with mild cognitive impairment, 108 with Alzheimer's from Caracas, and 23 individuals from Kamarata-Kanaimö. The *APOE* isoforms were determined with the AP1210Z: Seeplex® ApoE Genotyping kit.

**Results:** The allele  $\epsilon_4$  showed a significant association with mild cognitive impairment (OR=5.03; 95% CI: 0.98-25.70) and EA (OR=5.78; 95% CI: 1.24-26.85). The genotype frequencies for the control and mild cognitive impairment groups were  $\epsilon_3/\epsilon_3 > \epsilon_3/\epsilon_4 > \epsilon_2/\epsilon_4 > \epsilon_3/\epsilon_2 > \epsilon_4/\epsilon_4$ , and for the Alzheimer's group,  $\epsilon_3/\epsilon_3 > \epsilon_3/\epsilon_4 > \epsilon_4/\epsilon_4 > \epsilon_2/\epsilon_4 > \epsilon_3/\epsilon_2$ . In Kamarata-Kanaimö, the order was  $\epsilon_3/\epsilon_3 > \epsilon_3/\epsilon_4 > \epsilon_4/\epsilon_4$ ; the allele  $\epsilon_2$  was not found in this group.

**Conclusions:** *APOE* allelic and genotypic frequencies in our sample showed a similar distribution to those found in other studies in Venezuela and the Americas. The absence of the  $\epsilon_2$  allele in the indigenous community of Kamarata-Kanaimö warrants further investigation. The positive association of the  $\epsilon_4$  allele with both Alzheimer's and mild cognitive impairment was reinforced. The early determination of the  $\epsilon_4$  allele carriers can help establish preventive measures in our population.

**Recibido:** 15/11/2020

**Aceptado:** 27/01/2022

**Publicado:** 31/01/2022

#### Citación:

Martínez S, Ochoa B, Pérez MR, Torrico F, García I, García CC. Polimorfismos del gen de la apolipoproteína E en adultos mayores de 60 años con memoria cognitiva disminuida y enfermedad de Alzheimer en diferentes poblaciones venezolanas. *Biomédica*. 2022;42:116-29.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.5889>

#### Correspondencia:

Carmen Cristina García, Cátedra de Patología General y Fisiopatología, Instituto de Medicina Experimental Escuela de Medicina "Luis Razetti", Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela  
Teléfonos: (58) (212) 605 3503 y (58) (212) 305 3669  
carcrig@gmail.com; carmen.c.garcia@ucv.ve

#### Contribución de los autores:

Silvia Martínez, Bárbara Ochoa, María Rafaela Pérez: toma de muestras, realización de los experimentos de laboratorio y redacción del artículo  
Fátima Torrico y Carmen Cristina García: diseño del proyecto y consecución de la financiación  
Todos los autores participaron en el análisis de resultados y la redacción del artículo.

#### Financiación:

El trabajo fue financiado por el proyecto No.PG 09-8211-2011/1 del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, el proyecto PEI No. 2012000785 y el proyecto Misión Ciencias No. 200701493.

#### Conflicto de intereses:

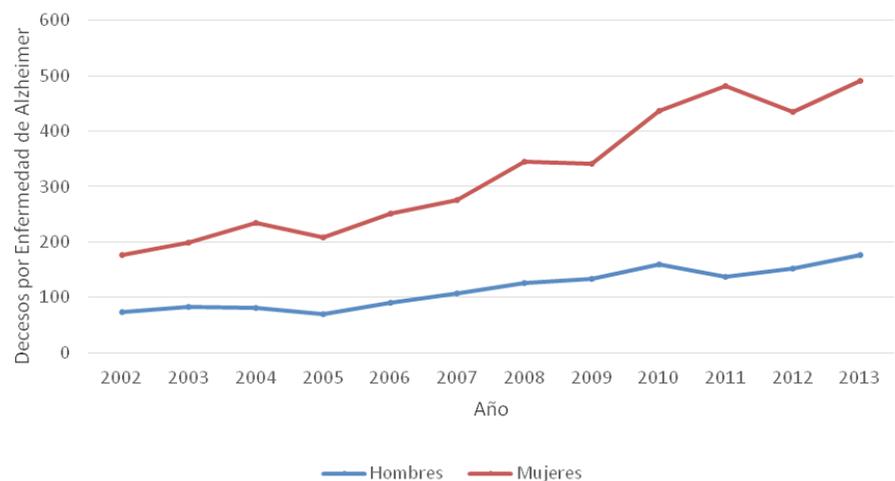
Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses relacionado con el artículo.

**Keywords:** Alzheimer's disease; cognitive dysfunction; dementia; apolipoprotein E4; Venezuela.

La enfermedad de Alzheimer es una afección de carácter progresivo e irreversible asociada con la neurodegeneración cerebral, que afecta a millones de personas a nivel mundial, usualmente después de los 60 años (1). Es la forma más frecuente de demencia, y representa entre 60 y 70 % de los casos a nivel global (1).

Actualmente hay 4,1 millones de personas con demencia en Latinoamérica y el Caribe, y se estima que la cifra se incrementará a 9,1 millones en el 2040, es decir, será similar a la de Norteamérica (2). Se plantea que en Venezuela 140.000 adultos mayores sufren de la enfermedad (3), con una mayor incidencia reportada (12,13 %), en el estado Zulia, seguido por el estado Miranda (11,67 %) y el Distrito Capital (9,91 %) (3). En el marco de los países estudiados por el grupo 10/66 *Dementia Research Group* (Cuba, República Dominicana, Perú, México, China y Venezuela), Venezuela registró la mayor incidencia en el grupo de personas mayores de 80 años (4). Este dato es de gran importancia, dado que las proyecciones del Instituto Nacional de Estadística (5) sugieren que la población de adultos mayores se va a triplicar en 30 años, pasando de 1'991.738 en el 2015 a un estimado de 6'304.070 en el 2045. Este aumento de la población de adultos mayores incidirá directamente en las cifras de demencia del país, lo que tendrá un impacto notable en los servicios de salud, a menos que se puedan desarrollar medidas preventivas eficaces, como el diagnóstico y el tratamiento precoces.

En Venezuela, la enfermedad de Alzheimer fue la vigésima quinta causa de muerte según las estadísticas de mortalidad del 2013 (6), pero se ha observado un incremento continuo a lo largo de la última década en la tasa de mortalidad de los pacientes con esta enfermedad. Debe anotarse que las cifras correspondientes a los años posteriores al 2013 no se encuentran disponibles (figura 1).



Fuente: Anuarios de mortalidad de Venezuela, 2002-2013, Ministerio del Poder Popular para la Salud (6)

**Figura 1.** Tasa de mortalidad para la enfermedad de Alzheimer de aparición tardía (>60 años) en Venezuela, 2002-2013

Nota: el anuario de mortalidad del 2013 fue publicado en diciembre de 2015; no hay anuarios publicados que incluyan datos desde el 2014.

La región cerebral más afectada por la enfermedad de Alzheimer es la corteza entorrinal; también, se ha determinado que el hipocampo, perteneciente al sistema límbico, es una de las zonas más vulnerables y exhibe una neuropatología grave en las etapas tempranas de la enfermedad. Una de las funciones afectadas por el daño en el hipocampo es la memoria anterógrada episódica, también conocida como memoria cognitiva. La pérdida de las neuronas en esta zona conlleva la atrofia del tejido, lo que ha sido ampliamente documentado mediante los estudios histológicos *post mortem* y las imágenes diagnósticas (7).

El aumento de la esperanza de vida en las poblaciones latinoamericanas lleva a preguntarse si el sistema público de salud estará preparado para detectar a las personas con signos de problemas cognitivos. Como consecuencia de la prolongada fase preclínica de la enfermedad de Alzheimer, hoy se han incrementado los esfuerzos para detectar la disminución de la memoria cognitiva, ya que se la ha propuesto como una fase intermedia entre un individuo sano y aquel con demencia. Los pacientes con esta alteración pueden desarrollar enfermedad de Alzheimer, enfermedad vascular u otros tipos de demencias, o pueden permanecer estables y, en algunos casos, incluso, revertir su condición y recuperar las funciones cognitivas normales (8).

El marcador genético más conocido para la enfermedad es el gen *APOE*, ubicado en el cromosoma 19 (q13.2.-q13.3), que codifica para la apolipoproteína E (ApoE) constituida por 299 aminoácidos. Se trata de un gen polimórfico con tres alelos conocidos:  $\epsilon_2$ ,  $\epsilon_3$  y  $\epsilon_4$ , los cuales se heredan de manera codominante. Es decir, cada uno de los padres aporta un alelo, lo que resulta en tres genotipos homocigotos:  $\epsilon_2/\epsilon_2$ ,  $\epsilon_3/\epsilon_3$  y  $\epsilon_4/\epsilon_4$ , y tres genotipos heterocigotos:  $\epsilon_2/\epsilon_3$ ,  $\epsilon_2/\epsilon_4$  y  $\epsilon_3/\epsilon_4$ . El alelo  $\epsilon_3$  corresponde al salvaje, en tanto que los alelos  $\epsilon_2$  y  $\epsilon_4$  se consideran variantes que se diferencian entre sí únicamente por la sustitución de los aminoácidos de los codones en posición 115 y 158. Cada alelo codifica para una proteína conocida como ApoE  $\epsilon_2$ ,  $\epsilon_3$  y  $\epsilon_4$  (9,10).

En Venezuela, el Instituto Nacional de Estadística afirma que la población indígena nacional aumentó a 725.141, y que el 7,54 % de ellos se encuentra en el estado Bolívar, incluidos 27.157 pemones (5). Entre los pemones, 24.121 se ubican en asentamientos distinguidos como “comunidades indígenas”, una de las cuales es Kamarata-Kanaimó (56°97'55" E y 63°45'02" N), con 605 habitantes (5,11).

Los pemones son indígenas suramericanos que hablan el pemón, perteneciente a la familia de idiomas caribes. Habitan la zona sureste del estado Bolívar en Venezuela, en la frontera con Guyana y Brasil, y están diseminados en el municipio Gran Sabana, que ocupa 32.990 km<sup>2</sup> con una densidad poblacional de 0,93 habitantes/km<sup>2</sup>. Estas tierras pertenecen al Parque Nacional Canaima y se consideran el hábitat ancestral del pueblo pemón, uno de cuyos asentamientos es la comunidad Kamarata-Kanaimö. El municipio es un parque considerado patrimonio natural protegido, región fronteriza de máxima seguridad, zona de explotación minera, destino turístico de renombre internacional y enlace geográfico con el mayor mercado de América del Sur (12).

Hay pocos estudios publicados sobre los polimorfismos de *APOE* en la población venezolana (13-15) y, menos aún, en la población indígena (13), por lo que en nuestro trabajo el objetivo fue determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de las isoformas del gen *APOE* en adultos mayores de 60 años

con disminución de la memoria cognitiva o enfermedad de Alzheimer en la población de la Gran Caracas y en una comunidad indígena pemón de la zona Kamarata-Kanaimö, Estado Bolívar. Dada la precaria situación del sector salud en Venezuela y la creciente población afectada por esta enfermedad, es necesario estudiar la prevalencia de biomarcadores en sangre periférica ya conocidos, que constituyen marcadores de riesgo para su desarrollo.

## **Materiales y métodos**

### ***Población de estudio***

El diseño experimental abarcó el estudio de 267 muestras distribuidas en 96 controles, 40 pacientes con disminución de la memoria cognitiva diagnosticada por el médico internista o el especialista en neurología, 108 pacientes con enfermedad de Alzheimer diagnosticada por el médico especialista y 23 personas pertenecientes a la comunidad indígena de Kamarata-Kanaimö (56°97'55" E y 63°45'02" N). Todos los individuos involucrados tenían más de 60 años cumplidos en el momento del estudio. Se hizo la genotipificación para APOE en cada uno de los participantes y, posteriormente, el análisis de frecuencias y asociación.

Las muestras de los controles, los pacientes con disminución de la memoria cognitiva y enfermedad de Alzheimer, se tomaron con el consentimiento informado de todos los individuos involucrados o sus representantes. Se contó con la aprobación del Comité de Ética del Instituto de Medicina Experimental de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela y del Hospital Clínico Universitario de Caracas.

Los participantes en el estudio fueron evaluados y estratificados por neurólogos clínicos. Para asignarlos a cada grupo, los neurólogos utilizaron el *Mini-Mental Test* (MMT) y una encuesta cognitiva de diagnóstico validada por el grupo 10/66 (Hospital Clínico Universitario de Caracas, UCV). De acuerdo con el puntaje obtenido por cada paciente, se le asignaba al grupo de control, de disminución de la memoria cognitiva o de enfermedad de Alzheimer. Los neurólogos y médicos internistas decidían a cuáles pacientes se les realizaban estudios de imágenes para ayudar a la confirmación de la enfermedad.

La muestra de los individuos de la comunidad indígena de Kamarata-Kanaimö estuvo constituida por hombres y mujeres que no presentaron sintomatología de disminución de la memoria cognitiva o de enfermedad de Alzheimer, y cuyo MMT arrojó resultados normales. El médico asignado al servicio ambulatorio de la zona había sido entrenado para realizar las pruebas cognitivas, y fue el encargado de hacer la evaluación física y con el MMT.

Las instituciones y casas hogares de la Gran Caracas que colaboraron en el presente estudio, fueron el Hospital Clínico Universitario de Caracas, el Hogar Residencial Santo Domingo (Av. Neverí, Colinas de Bello Monte), la Casa Hogar Santa Isabel (Av. Neverí, Colinas de Bello Monte), la Casa Hogar Venezuela SRL (Av. Maracaibo con Av. Maturín, Las Palmas), y el Ancianato Fundación Cristóforo Colombo (Villa Pompei), San Antonio de los Altos, Estado Miranda.

### ***Análisis molecular***

Se extrajeron 12 ml de sangre periférica a los individuos en los establecimientos, instituciones y hogares mencionados, y se los incluyó en cada grupo según los criterios ya expuestos. Las muestras se recolectaron en

tubos con EDTA como anticoagulante. Una vez separada la alícuota para la extracción de ADN, las muestras de sangre completa preservadas con EDTA y el ADN aislado (DNAeasy® Blood and Tissue, Quiagen) se identificaron debidamente y se almacenaron a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Para determinar las isoformas de *APOE* se utilizó el kit AP1210Z: Seeplex ApoE Genotyping™, técnica *in vitro* cualitativa para la detección de los genotipos de *APOE* que se basa en la tecnología de cebadores duales (DPO™), facilita la optimización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y maximiza la especificidad y la sensibilidad bloqueando la alineación inespecífica de los cebadores. El control interno define una banda de 779 pares de bases (pb). El peso molecular de las bandas según las isoformas de *APOE* son las siguientes: 158Cys (517 pb), 112Arg (447 pb), 112Cys (376 pb) y 158Arg (311 pb).

El termociclador se precalentó a  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  antes de colocar las muestras para comenzar la PCR en caliente. Se utilizó el siguiente programa de amplificación: desnaturalización a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos, seguida por 35 ciclos a  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 0,5 minutos, a  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 0,5 minutos, a  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2 minutos y una última fase de extensión a  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos.

Un volumen de 5  $\mu\text{l}$  de los productos amplificados se cargó en un gel de agarosa al 2 % con bromuro de etidio y se hizo una electroforesis a 120 V durante 20 minutos.

De acuerdo con el sistema de genotipificación de los polimorfismos de *APOE* rs429358/rs7412 utilizado, los resultados obtenidos de la amplificación fueron los siguientes:

### **Análisis estadístico**

La razón de momios (*Odds Ratio*, OR) se determinó asumiendo un modelo aditivo donde se estima que cada copia del alelo  $\epsilon_4$  modifica la asociación en forma aditiva. Por lo tanto, los homocigotos  $\epsilon_4/\epsilon_4$  tendrían una asociación mayor con la enfermedad que los heterocigotos  $\epsilon_3/\epsilon_4$ , y  $\epsilon_2/\epsilon_4$ . El paquete utilizado fue la función *logit* del programa de uso libre R.

### **Resultados**

Todos los individuos incluidos en el presente trabajo eran mayores de 60 años: la media de la edad fue de  $68,7\pm 8$  años en el grupo de control y de  $83,59\pm 8$  años en el grupo de pacientes con enfermedad de Alzheimer (cuadro 1). Las mujeres representaban el 60 % o más en todos los grupos, con excepción de la comunidad indígena en la que correspondieron al 52 % de los participantes.

Los alelos y genotipos de los polimorfismos se distribuyeron mediante conteo directo y se calcularon las respectivas frecuencias (cuadro 2). La distribución de los genotipos en el grupo de control se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinberg. El alelo  $\epsilon_3$  fue el más frecuente en todos los grupos muestrales, seguido por el alelo  $\epsilon_4$ . El alelo  $\epsilon_2$  estaba presente en los grupos de la Gran Caracas, pero no así en el grupo de Kamarata-Kanaimö (cuadro 2).

En cuanto a las frecuencias genotípicas de los grupos de control y aquellos con disminución de la memoria cognitiva, su orden de mayor a menor fue  $\epsilon_3/\epsilon_3 > \epsilon_3/\epsilon_4 > \epsilon_2/\epsilon_4 > \epsilon_3/\epsilon_2 > \epsilon_4/\epsilon_4$ . No se encontraron portadores homocigotos del genotipo  $\epsilon_2/\epsilon_2$ . En el grupo con enfermedad de Alzheimer,

el orden de los genotipos fue  $\epsilon 3/\epsilon 3 > \epsilon 3/\epsilon 4 > \epsilon 4/\epsilon 4 > \epsilon 2/\epsilon 4 > \epsilon 3/\epsilon 2$ ; en tanto que, en el grupo de la comunidad Kamarata-Kanaimö, fue  $\epsilon 3/\epsilon 3 > \epsilon 3/\epsilon 4 > \epsilon 4/\epsilon 4$  y no se encontraron isoformas que incluyeran al alelo  $\epsilon 2$  (cuadro 2). Los individuos que presentaban el alelo APO  $\epsilon 4$  mostraron una asociación positiva entre este y la disminución de la memoria cognitiva (OR=2,29; IC<sub>95%</sub> 1,3539-3,8893;  $p < 0,02$ ). Asimismo, utilizando el modelo dominante para analizar este polimorfismo, se encontró una asociación cuando los individuos eran portadores homocigotos de  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (OR=5,03; IC<sub>95%</sub> 0,98-25,70;  $p < 0,05$ ). Además, los individuos con el alelo APO $\epsilon 4$  mostraron una asociación positiva entre su presencia y la enfermedad de Alzheimer (OR=1,5248; IC<sub>95%</sub> 0,9624-2,4147;  $p < 0,05$ ). Según el modelo dominante, hubo una mayor asociación entre la enfermedad de Alzheimer y los portadores homocigotos de  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (OR=5,78; IC<sub>95%</sub> 1,24-26,85;  $p < 0,05$ ). En el grupo de la comunidad Kamarata-Kanaimö, no se encontraron individuos con disminución de la memoria cognitiva o enfermedad de Alzheimer.

Al corregir las frecuencias según el sexo, se sugirió una asociación positiva entre el alelo  $\epsilon 4$  y la disminución de la memoria cognitiva en los portadores: mujeres (OR=1,8450; IC<sub>95%</sub> 0,8957-3,8002; n.s.  $p < 0,09$ ) y hombres (OR=1,55; IC<sub>95%</sub> 0,5577-4,380; n.s.  $p < 0,40$ ). En el cuadro 3, se muestran las frecuencias genotípicas y alélicas discriminadas por sexo en los diferentes grupos muestrales. Al comparar las frecuencias del alelo  $\epsilon 4$  en los grupos con enfermedad de Alzheimer y de control, se observaron diferencias estadísticamente significativas en las mujeres con enfermedad de Alzheimer ( $\chi^2 = 4,53$ ; grados de libertad= 1;  $\alpha = 0,05$ ).

## Discusión

El marcador genético más conocido para la enfermedad de Alzheimer es el gen APOE; sin embargo, no todos los casos se pueden explicar por la presencia del alelo  $\epsilon 4$ , lo que ha llevado a determinar que existen otros genes que pueden contribuir al riesgo de desarrollar la enfermedad.

**Cuadro 1.** Variables demográficas

Variable demográfica	Control (N=96)	MCD (N=40)	EA (N=108)	Kamarata-Kanaimö (N=23)
Edad (años)	68,7 ± 8	70,5 ± 7,96	83,59 ± 8	68,5 ± 7,5
Mujeres	59 (61 %)	24 (60 %)	79 (73 %)	12 (52 %)
Hombres	37 (39 %)	16 (40 %)	29 (27 %)	11 (48 %)

MCD: memoria cognitiva disminuida; EA: enfermedad de Alzheimer

**Cuadro 2.** Frecuencias genotípicas y alélicas de polimorfismos del gen APOE de los grupos muestrales

Grupo	n	Frecuencias genotípicas <sup>a</sup>					Frecuencias alélicas		
		$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 2$	$\epsilon 4/\epsilon 4$	$\epsilon 2/\epsilon 4$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$	$\epsilon 2$
Control	96	0,57	0,25	0,06	0,01	0,11	0,73	0,18	0,09
Memoria cognitiva disminuida	40	0,53	0,32	0,021	0,08*	0,049	0,70	0,26*	0,04
Enfermedad de Alzheimer	108	0,48	0,36	0,026	0,071*	0,063	0,68	0,24*	0,08
Kamarata-Kanaimö <sup>a</sup>	23	0,52	0,39	-	0,09	-	0,71	0,29	-

<sup>a</sup> No se encontró el genotipo  $\epsilon 2/\epsilon 2$ .

MCD: memoria cognitiva disminuida; EA:

\*  $p < 0,05$  con respecto al grupo de control

**Cuadro 3.** Frecuencias genotípicas y alélicas de polimorfismos de APOE discriminadas por sexo en los grupos muestrales

Grupo	n	Frecuencias genotípicas <sup>a</sup>					Frecuencias alélicas		
		ε3/ε3	ε3/ε4	ε3/ε2	ε4/ε4	ε2/ε4	ε3	ε4	ε2
Control									
Mujeres	59	0,53	0,33	0,045	0,015	0,076	0,74	0,20	0,06
Hombres	37	0,63	0,20	0,08	-	0,09	0,76	0,16	0,08
Memoria cognitiva disminuida									
Mujeres	26	0,60	0,30	-	0,03	0,07	0,74	0,22	0,04
Hombres	14	0,47	0,41	0,06	0,06	-	0,70	0,27	0,03
Enfermedad de Alzheimer									
Mujeres	79	0,42	0,39	0,06	0,06	0,07	0,64	0,30	0,06
Hombres	29	0,62	0,24	-	0,11	0,03	0,71	0,28	0,01
Kamarata-Kanaimó									
Mujeres	12	0,75	0,25	-	-	-	0,87	0,13	-
Hombres	11	0,54	0,36	-	0,1	-	0,66	0,24	-

<sup>a</sup> No se encontró el genotipo ε2/ε2

**Cuadro 4.** Distribuciones alélicas porcentuales de APOE encontradas en el presente estudio y otras investigaciones realizadas en Venezuela

Alelos	Gran Caracas n=96	Kamarata-Kanaimó, Estado Bolívar n=23 Pemonos	Molero, et al., 2001 n=1.665 Estado Zulia	Fernández, et al., 2005 n=40 Caucásicos Estado Miranda	Fernández, et al., 2005 n=87 Mestizos Estado Miranda	Arráiz, et al., 2008 n=88 Estado Zulia
<b>Distribución de porcentajes</b>						
APOE ε2	9	-	5	3,8	18,9	10
APOE ε3	75	80	84	81,2	71,3	78
APOE ε4	16	20	11	15	9,8	12

La primera y la segunda columna muestran los resultados obtenidos en el presente estudio; las columnas 3 a 6 reflejan los resultados de otros estudios en regiones venezolanas.

Nótese la variabilidad de los porcentajes en los diferentes trabajos (18,19,20).

Martínez, et al. (2007), describieron las frecuencias de haplotipos en Caracas analizando el ADN mitocondrial. Encontraron que existía una gran proporción de haplotipos pertenecientes a amerindios, cuyos porcentajes variaban entre 43 y 72 % dependiendo del nivel socioeconómico de la población (16). Gómez-Carballa, et al. (2012), analizaron los procesos de mezcla racial ocurridos en Venezuela durante los últimos siglos. Se suponía que el componente indígena de la población había desaparecido progresivamente de la Venezuela urbana debido a las sucesivas olas de inmigración provenientes de Europa, África subsahariana y, en tiempos recientes, de países vecinos de América. Sin embargo, encontraron que el componente de ADN mitocondrial proveniente de amerindios era de 65 % en una muestra de la Gran Caracas (17). Estos hallazgos nos ayudan a comprender las posibles razones de los resultados de la presente investigación, según los cuales existe una gran variabilidad genética en la distribución de los alelos del gen *APOE* en la población venezolana (cuadro 4).

Pocas comunidades humanas pueden considerarse realmente aislamientos genéticos. Como se ha demostrado en el último siglo, en varias poblaciones existe cierto grado de consanguinidad que no alcanza una magnitud tal que permita clasificarlas como en aislamiento geográfico. Para comprender la mezcla o posible aislamiento de la población indígena venezolana, Merriwether, et al. (2000), llevaron a cabo un análisis del ADN mitocondrial de la comunidad Yanomami, la cual habita también en el Estado Bolívar y el norte de Brasil (18). Encontraron un gran componente amerindio en los pobladores, con haplotipos D (40 %) y C (51 %). Posteriormente, Williams, et al. (2002), encontraron en dicha comunidad un patrón variable de haplotipos: D (12 %), B (56 %) y C (32 %) (19)

Entre el 2000 y el 2005, se llevaron a cabo análisis de ADN mitocondrial, del cromosoma Y y de polimorfismos autosómicos, en muestras de poblaciones aisladas en Antioquia (Colombia) y en el Valle Central de Costa Rica. Se encontró que ambas comunidades eran genéticamente muy similares, lo cual indica que tienen una relación cercana desde su fundación. En ambas poblaciones, la mayoría de los ancestros eran amerindios, con predominio de europeos entre los hombres y de amerindias entre las mujeres (20,21). Estos procesos raciales no se han investigado en el pueblo pemón, por lo que solo se puede suponer que los patrones de mezcla de estos indígenas pueden ser similares a los observados en comunidades cercanas y nos permitirían explicar la distribución alélica encontrada del gen APOE (cuadro 4). Además, puede haber influencia de ancestros masculinos europeos o subsaharianos en la composición genética de esta población indígena.

### **Distribución del alelo $\epsilon_3$**

El  $\epsilon_3$  se considera como el alelo silvestre en la mayoría de la población mundial y su expresión está involucrada en la homeostasis lipídica y en el sistema nervioso central con la captación y remoción del  $\beta$ -amiloide. Su expresión en homocigosis o heterocigosis permite que la proteína ApoE, mediante su función de distribuir los lípidos en las células de la microglía, sea capaz de remover las fracciones de  $\beta$ -amiloide para que no haya dimerización y formación de cúmulos de proteína amiloide, característicos de enfermedad de Alzheimer (22). En el presente estudio, se encontró una distribución alélica de 75 % en el grupo control y de 80 % en la comunidad indígena de Kamarata-Kanaimö. Estos resultados son cercanos a los de otros trabajos de investigación sobre los genotipos de APOE realizados en Venezuela (cuadro 4). Estos estudios se centraron en las poblaciones del Estado Zulia, donde se observaron distribuciones alélicas de 84 % (14) y 78% (15), respectivamente; además, el de Fernández, *et al*, (2005), que encontraron 71,3 % en la Gran Caracas y 81,2 % en el Estado Miranda (13).

En trabajos realizados en ciudades de Colombia, se reportó el alelo  $\epsilon_3$  con una frecuencia de 92 % en Medellín, de 85 % en Barranquilla y de 85,6 % en Bogotá (23,24). Asimismo, otros estudios en Perú y Brasil reportan la presencia del alelo  $\epsilon_3$  en frecuencias de 93,9 % y 80 % (25,26). Las diferencias regionales pueden deberse a las composiciones étnicas de cada zona; por ejemplo, de acuerdo con el Censo General 2005, Perfil Barranquilla-Atlántico realizado por el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) de Colombia, 13,2 % de la población de Barranquilla se auto reconoce como negra y 0,1 % indígena. El resto lo constituyen principalmente las razas caucásica y mestiza (Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE): Censo General 2005. Perfil Barranquilla-Atlántico. Fecha de consulta: 30 de Julio de 2018. Disponible en: <http://www.dane.gov.co/files/censo2005/perfiles/atlantico/barranquilla.pdf>. También en: <https://www.minsalud.gov.co/plandecenal/mapa/analisis-de-Situacion-Salud-Barranquilla-2012-2015.pdf>).

### **Distribución del alelo $\epsilon_2$**

En el presente estudio, el alelo  $\epsilon_2$  se distribuyó en el 9 % del grupo control, lo cual coincide con otros trabajos venezolanos de investigación sobre los genotipos del APOE (cuadro 3). En dos poblaciones del Estado Zulia, se observaron distribuciones alélicas de 5 % y 10 %, respectivamente (14,15); además, Fernández, *et al*. (2005), encontraron 3,7 % en la Gran Caracas y 18,9 % en el Estado Miranda (13).

En Suramérica, se reportó el alelo  $\epsilon_3$  en tres ciudades de Colombia, con una frecuencia de 92 % en Medellín, de 85 % en Barranquilla y de 85,6 % en Bogotá (23,24); y además, de 1,1 % en Perú (25) y de 6 % en Brasil (26).

Aunque el alelo  $\epsilon_2$  se encuentra en la mayoría de las poblaciones estudiadas previamente, en el presente estudio no se evidenció en la comunidad indígena de Kamarata-Kanaimö. Esto plantea interrogantes sobre la composición genética de dicha comunidad y el efecto de la ausencia de dicho alelo en la aparición de problemas cognitivos y enfermedad de Alzheimer. Este resultado coincide con lo reportado por Fernández, *et al.* (2005), en las poblaciones amerindias Yucpa y Bari, habitantes de la sierra del Perijá en la frontera colombo-venezolana (13).

Se considera que el alelo  $\epsilon_2$  juega un papel protector frente a la disminución de lipoproteínas de baja densidad y se asocia con la aparición de la hiperlipidemia de tipo III, puesto que la proteína codificada por este alelo no se une con facilidad al receptor hepático, lo que afecta el metabolismo de los quilomicrones asociados con enfermedades metabólicas. Además, se ha reportado que la probabilidad de que un individuo con el genotipo  $\epsilon_2/\epsilon_2$  sufra la enfermedad de Alzheimer es muy baja (27); por lo tanto, este alelo podría tener un efecto neuroprotector (28).

En el presente trabajo, la frecuencia de este alelo en la población urbana de la Gran Caracas es alta (9 %), cercana al 10 % encontrado por Arráiz, *et al.* (2008), en una población mestiza del Estado Miranda (15). Sin embargo, ambas son altas al contrastarlas con aquellas encontradas en otros trabajos, como el de Molero, *et al.* (2001), donde se reporta una frecuencia de 5% (14), comparable al 3,8% informada por Fernández *et al.* (2005) (13).

La gran frecuencia del alelo  $\epsilon_3$  puede interpretarse fisiológicamente como una disminución en la predisposición para el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Es de resaltar que, en el grupo con disminución de la memoria cognitiva y en el de enfermedad de Alzheimer, se observó una frecuencia menor del alelo  $\epsilon_2$  a la observada en el grupo control, 3 % y 5 %, respectivamente, lo que sugiere que estos individuos serían más proclives a sufrir una de estas dos condiciones.

#### **Distribución del alelo $\epsilon_4$**

Funcionalmente, la isoforma ApoE  $\epsilon_4$  presenta una afinidad disminuida por el receptor de lipoproteínas de baja densidad y por las partículas de lipoproteínas, lo cual disminuye la captación de monómeros de  $\beta$  amiloide y su subsecuente remoción por parte de la microglía (9,10).

El alelo  $\epsilon_4$  presentó una distribución porcentual de 16 % en la muestra de la Gran Caracas y, una aún mayor (20 %), en la comunidad Kamarata-Kanaimö, porcentajes que resultan altos al compararlos con los de otros trabajos realizados en Venezuela. Los estudios de Molero, *et al.* (2001), y Arráiz, *et al.* (2008), se han centrado en las poblaciones del Estado Zulia, donde observaron frecuencias de 11 % y 12 %, respectivamente (14,15). Por otra parte, Fernández *et al.* (2008), describen frecuencias de 15 % en la Gran Caracas y de 9,8 % en el Estado Miranda (13). Además, en la población indígena Warao, nativos del Estado Delta Amacuro, la frecuencia encontrada fue de 11 % (29).

Respecto a otros trabajos en el continente americano, en Colombia, se reportan frecuencias para este alelo de 4,1 %, 12,5 % y 13 %, en las ciudades de Medellín, Barranquilla y Bogotá, respectivamente (23,24); mientras que, en Perú, se ha reportado una frecuencia de 5 % (25).

Se obtuvo una asociación significativa para el alelo  $\epsilon 4$ , tanto en el grupo con disminución de la memoria cognitiva (OR=5,03; IC<sub>95%</sub> 0,98-25,70) como en el de enfermedad de Alzheimer (OR=5,78; IC<sub>95%</sub> 1,24-26,85); es decir, que la presencia del alelo  $\epsilon 4$  aumenta en cinco veces la posibilidad de desarrollar problemas de cognición y, casi en seis, el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer. Como se ha subrayado durante este trabajo, la disminución de la memoria cognitiva es una fase transicional entre el envejecimiento normal y la demencia, y se asocia con un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer. La tasa a la que los casos de disminución de la memoria cognitiva progresan a enfermedad de Alzheimer es de 10 a 15 % por año, en contraste con una tasa de 1 a 2 % por año en individuos mayores sanos.

La prevalencia de APOE  $\epsilon 4$  es mayor en pacientes con disminución de la memoria cognitiva que en adultos mayores sanos y así lo reflejan los resultados obtenidos, tanto así, que los portadores presentan rasgos cognitivos comparables con aquellos que se observan en los estadios tempranos de la enfermedad de Alzheimer.

Un estudio caso-control en exámenes de memoria en portadores del APOE  $\epsilon 4$  reportó resultados bajos comparados con aquellos que no lo son. La presencia de este alelo se encuentra asociada con memoria ejecutoria disminuida, gravedad y aumento de esta pérdida de memoria a una edad media (40-59 años) y en adultos mayores (60-85 años); además, esta asociación está relacionada con la ¿dosis? de APOE  $\epsilon 4$  que porte el individuo (30).

En estudios prospectivos, se han analizado el efecto del APOE y del sexo en la conversión clínica de individuos sanos a pacientes con disminución de la memoria cognitiva y enfermedad de Alzheimer. Se encontró que las mujeres portadoras del alelo APOE  $\epsilon 4$  fueron más propensas a desarrollar disminución de la memoria cognitiva o enfermedad de Alzheimer, en un intervalo de cuatro años aproximadamente (31,32). Estos trabajos soportan los hallazgos de la presente investigación con respecto a dicho mayor riesgo en mujeres portadoras del alelo  $\epsilon 4$ .

### **Distribución de genotipos del APOE**

En el presente estudio, los individuos homocigotos para el alelo  $\epsilon 4$  con disminución de la memoria cognitiva, presentaron una asociación significativa y con riesgo de ser perjudicial (OR=5,03; IC<sub>95%</sub> 0,98-25,70;  $p < 0,05$ ). Así mismo, el valor de OR en el grupo con enfermedad de Alzheimer sugiere un efecto importante de este alelo en homocigosis sobre la predisposición a desarrollar enfermedad de Alzheimer (OR=5,78; IC<sub>95%</sub> 1,24-26,85;  $p < 0,05$ ). Los resultados coinciden con los de estudios poblacionales en los cuales la asociación entre APOE  $\epsilon 4$  y la enfermedad de Alzheimer es menor entre afroamericanos ( $\epsilon 4 / \epsilon 4$ , OR=5,7) e hispanos ( $\epsilon 4 / \epsilon 4$ , OR=2,2). Esa asociación mostró ser más fuerte en poblaciones japonesas ( $\epsilon 4 / \epsilon 4$ , OR=33,1) y caucásicas ( $\epsilon 4 / \epsilon 4$ , OR=14,9) (30). El APOE  $\epsilon 4$  está asociado a una mayor prevalencia de enfermedad de Alzheimer y una menor edad de comienzo de la misma. Su frecuencia y la edad media de su comienzo clínico son de 91 % y 68 años en homocigotos  $\epsilon 4 / \epsilon 4$ , de 47 % y 76 años en heterocigotos  $\epsilon 2 / \epsilon 4$ ,  $\epsilon 3 / \epsilon 4$ , y de 20 % y 84 años en aquellos individuos que no presentan el alelo

$\epsilon 4$ . Estos datos indican que la presencia de *APOE*  $\epsilon 4$  incrementa el riesgo de desarrollar la enfermedad a una edad temprana, de una forma que depende de los alelos de *APOE* presentes en el genoma del individuo (30).

En la comunidad Kamarata-Kanaimö no se encontró ningún caso de demencia y el único individuo (9 %) que presentó el genotipo  $\epsilon 4/\epsilon 4$  tenía 94 años, por lo que este alto porcentaje puede deberse al tamaño de la muestra estudiada (cuadro 5). Dozzi, *et al.* (2014), describieron una prevalencia de demencia de 4,9 % en comunidades indígenas de la Amazonía brasileña, que tenían una media de edad de 62,3 años (33). Esta población era considerada homogénea, y geográficamente aislada, y se logró muestrear a más del 50 % de sus miembros. Todos los participantes presentaban un nivel educativo muy bajo, así como colesterol bajo y tensión arterial baja, características que han sido reconocidas como factores de riesgo para el desarrollo de las demencias de tipo Alzheimer. Caixeta, en un trabajo presentado como póster en el 2011, reportó los hallazgos de otra población de la Amazonía brasileña, en la cual encontró una prevalencia de demencia de 6,4 % y una media de edad de 72,4 años (34). En ambos estudios, los autores afirmaron que el bajo riesgo cardiovascular era protector en estas comunidades, aun cuando los niveles educativos eran bajos. Sin embargo, es oportuno comentar que este nivel educativo fue medido desde la perspectiva occidental, sin tomar en cuenta la educación recibida realmente por esas comunidades. Moreno, *et al.* (2017), estimaron la influencia genética ancestral en individuos con enfermedad de Alzheimer de aparición tardía, comparándola con controles, y encontraron que aquellos que tenían ancestros amerindios presentaban un riesgo menor de desarrollarla (35). En dicho trabajo se controlaron factores como edad, sexo, *APOE*, educación y estatus socioeconómico, pero no así factores de riesgo cardiovasculares. Si pertenecer a la etnia amerindia supone un factor de protección en el desarrollo de enfermedad de Alzheimer de comienzo tardío, es un aspecto importante que requiere mayor investigación.

### Conclusión

Las frecuencias alélicas y genotípicas del gen *APOE* en la muestra de adultos mayores de 60 años en la Gran Caracas, mostraron una distribución similar a la de otros trabajos en población venezolana y fueron menores que aquellas reportadas en poblaciones suramericanas, lo cual corrobora su caracterización como factor de riesgo para el desarrollo de disminución de la memoria cognitiva y enfermedad de Alzheimer.

**Cuadro 5.** Distribuciones porcentuales de genotipos de *APOE* encontrados en el presente trabajo y otros estudios realizados en Venezuela

Genotipos	Gran Caracas	Kamarata-Kanaimö, Estado Bolívar	Molero, et al., 2001	Fernández, et al., 2005	Fernández, et al., 2005	Arráiz, et al., 2008
	n=96	n=23	n=1665	n=40	n=87	n=88
		Pemonos	Estado Zulia	Caucásicos Estado Miranda	Mestizos Estado Miranda	Estado Zulia
$\epsilon 2/\epsilon 2$	0	0	3	0	0	2,7
$\epsilon 2/\epsilon 3$	6	0	8,1	7,5	31	15,9
$\epsilon 2/\epsilon 4$	5	0	1	0	7	0
$\epsilon 3/\epsilon 3$	57	52	71,3	65	53	57,95
$\epsilon 3/\epsilon 4$	25	39	17,9	25	6	23,86
$\epsilon 4/\epsilon 4$	1	9	1,4	2,5	3	0

La primera y segunda columnas muestran los resultados obtenidos en el presente estudio; las columnas 3 a 6 reflejan los resultados de otros estudios en regiones venezolanas.

Nótese la variabilidad de los porcentajes en los diferentes trabajos (18,19,20).

La distribución genotípica del gen *APOE* en la población estudiada mantiene la misma tendencia existente en otros estudios en Venezuela y en otras zonas de las Américas. Sin embargo, la ausencia del alelo  $\epsilon 2$  en la comunidad indígena de Kamarata-Kanaimö amerita mayor investigación.

Los individuos homocigotos para el alelo  $\epsilon 4$  y con disminución de la memoria cognitiva, presentaron una asociación significativa y perjudicial (OR= 5,03; IC<sub>95%</sub> 0,98-25,70;  $p < 0,05$ ). Así mismo, el valor de OR en el grupo con enfermedad de Alzheimer sugiere un efecto importante de la presencia del alelo  $\epsilon 4$  en homocigosis sobre la predisposición a desarrollar esta enfermedad (OR=5,78; IC<sub>95%</sub> 1,24-26,85;  $p < 0,05$ ). El riesgo de sufrir disminución de la memoria cognitiva y enfermedad de Alzheimer en presencia de al menos un alelo  $\epsilon 4$ , se comprobó en el presente estudio en población de la Gran Caracas, lo cual coincide con los resultados de otros estudios realizados en los Estados Miranda y Zulia.

Se requiere comprensión o conocimiento claro de la estructura genética de las comunidades indígenas de Venezuela, para explicar el origen de ciertas enfermedades genéticas y sus implicaciones en el sistema de salud.

## Referencias

1. World Health Organization. Dementia: A public health priority. Fecha de consulta: 4 de julio de 2017. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/dementia-a-public-health-priority>
2. Rodríguez JL, Gutiérrez RF. Demencias y enfermedad de Alzheimer en América Latina y el Caribe. Rev Cubana Salud Pública. 2014;40:378-87.
3. Fundación Alzheimer de Venezuela. Fecha de consulta: 4 de julio de 2017. Disponible en: <https://www.alzheimervenezuela.org>
4. Prince M, Wimo A, Guerchet M, Ali G, Wu Y, Prina M. World Alzheimer's Report 2015. Fecha de consulta: 10 de agosto de 2017. Disponible en: <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2015/>
5. Instituto Nacional de Estadística. XIV Censo general de población y vivienda. Fecha de consulta: 30 de julio de 2018. Disponible en: <http://www.ine.gov.ve/documentos/Demografia/CensodePoblacionyVivienda/pdf/nacional.pdf>
6. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Anuarios de mortalidad de Venezuela 2002-2013. Fecha de consulta: 3 de agosto de 2018. Disponible en: <https://www.ovsalud.org/publicaciones/documentos-oficiales/>
7. Laws S, Hone E, Gandy S, Martins, R. Expanding the association between the *APOE* gene and the risk of Alzheimer's disease: Possible roles for *APOE* promoter polymorphisms and alterations in *APOE* transcription. J Neurochem. 2003;84:1215-36. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01615.x>
8. Rosenberg P, Lyketsos C. Mild cognitive impairment: Searching for the prodrome of Alzheimer's disease. World Psychiatry. 2008;7:72-8. <https://doi.org/10.1002/j.2051-5545.2008.tb00159.x>
9. Farrer L, Cupples L, Haines J, Hyman B, Kukull W, Mayeux R, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. JAMA. 1997;278:1349-56.
10. Slooter A, Cruts M, Kalmijn S, Hofman A, Breteler M, van Broeckhoven C, et al. Risk estimates of dementia by apolipoprotein E genotypes from a population-based incidence study: The Rotterdam Study. Arch Neurol. 1998;55:964-8. <https://doi.org/10.1001/archneur.55.7.964>
11. Martens R. La ordenación del territorial de Venezuela y su impacto en las comunidades indígenas del municipio Gran Sabana, Edo. Bolívar. Bol Antropol. 2018;36:274-306.
12. Angosto L. Mundo perdido, paraíso encontrado: lugar, identidad y producción en la Gran Sabana, Venezuela. Rev Colomb Antropol. 2013;49:11-43. <https://doi.org/10.22380/2539472X71>

13. Fernández-Mestre M, Castro Y, Montagnani S, Balbas O, Layrisse Z. Genetic variability of apolipoprotein E in different populations from Venezuela. *Dis Markers*. 2005;21:15-9. <https://doi.org/10.1155/2005/625182>
14. Molero A, Pino-Ramírez G, Maestre G. Modulation by age and gender of risk of Alzheimer's disease and vascular dementia associated with the apolipoprotein E-epsilon 4 allele in Latin Americans: Findings from the Maracaibo Aging Study. *Neurosci Lett*. 2001;307:5-8. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)01911-5](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)01911-5)
15. Arráiz N, Bermúdez V, Prieto C, Sánchez M, Escalona C, Sanz E, *et al.* Association between apolipoprotein E gene polymorphism and hypercholesterolemic phenotype in Maracaibo, Zulia state, Venezuela. *Am J Ther*. 2010;17:330-6. <https://doi.org/10.1097/MJT.0b013e3181c1235d>
16. Martínez H, Rodríguez-Larralde A, Izaguirre MH, De Guerra DC. Admixture estimates for Caracas, Venezuela, based on autosomal, Y Chromosome, and mtDNA markers. *Hum Biol*. 2007;79:201-13. <https://doi.org/10.1353/hub.2007.0032>
17. Gómez-Carballa A, Veiga A, Álvarez-Iglesias V, Pastoriza-Mourelle A, Ruíz Y, Pineda L, *et al.* A melting pot of multicontinental mtDNA lineages in admixed Venezuelans. *Am J Phys Anthropol*. 2012;147:78-87. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21629>
18. Merriwether DA, Kemp BM, Crews DE, Neel JV. Gene flow and genetic variation in the Yanomami as revealed by mitochondrial DNA. In: Renfrew C, editor. *America past, America present: Genes and languages in the Americas and beyond*. Cambridge: McDonald Institute for Archaeological Research; 2000. p. 89-124.
19. Williams SR, Chagnon NA, Spielman RS. Nuclear and mitochondrial genetic variation in the Yanomamo: A test case for ancient DNA studies of prehistoric populations. *Am J Phys Anthropol*. 2002;117:246-59. <https://doi.org/10.1002/ajpa.10035>
20. Bedoya G, Montoya P, García J, Soto I, Bourgeois S, Carvajal L, *et al.* Admixture dynamics in Hispanics: A shift in the nuclear genetic ancestry of a South American population isolate. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:7234-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508716103>
21. Carvajal-Carmona L, Ophoff R, Service S, Hartiala J, Molina J, León P, *et al.* Genetic demography of Antioquia (Colombia) and the Central Valley of Costa Rica. *Hum Genet*. 2003;112:534-41. <https://doi.org/10.1007/s00439-002-0899-8>
22. Mahley R. Central nervous system lipoproteins: ApoE and regulation of cholesterol metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36:1305-15. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.307023>
23. Ruiz M, Arias I, Rolón G, Hernández E, Garavito P, Silvera-Redondo C. Análisis del polimorfismo del gen APOE en la población de Barranquilla, Colombia. *Biomédica*. 2016;36:52-8. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2612>
24. Arango VJ, Valencia A, Páez A, Montoya N, Palacio C, Arbeláez M, *et al.* Prevalencia de variantes en el gen de la apolipoproteína e (APOE) en adultos de la población general del área urbana de Medellín (Antioquia). *Rev Colomb Psiquiatr*. 2014;43:80-6. <https://doi.org/10.1016/j.rcp.2013.11.012>
25. Marca V, Acosta O, Cornejo M, Ortega O, Huerta D, Mazzetti D. Polimorfismo genético de APOE en una población peruana. *Ver Peruana Med Exp Salud Pública*. 2011;28:589-94.
26. Fuzikawa A, Peixoto S, Taufer M, Moriguci E, Lima-Costa M. Apolipoprotein E polymorphism distribution in an elderly Brazilian population: The Bambuí health and Aging Study. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40:1429-34. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2007001100002>
27. Reiman E, Arboleda-Velásquez J, Quiroz Y, Huentelman M, Beach T, Caselli R, *et al.* The Alzheimer's Disease Genetics Consortium. Exceptionally low likelihood of Alzheimer's dementia in APOE2 homozygotes from a 5,000-person neuropathological study. *Nat Commun*. 2020;11:667 <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14279-8>
28. Kim Y, Seo S, Park S, Yang J, Lee J, Lee J, *et al.* Protective effects of APOE e2 against disease progression in subcortical vascular mild cognitive impairment patients: A three-year longitudinal study. *Sci Rep*. 2016;7:1910. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02046-y>
29. Vivenes M, Garcés MF, Rodríguez G, Lugo F, Celaya J, Rodríguez A. Análisis genético en indígenas Warao del estado Delta Amacuro, Venezuela, en base a las variantes del gen que codifica para la apolipoproteína E. *Invest Clin*. 2015;56:874-9.
30. Liu M, Bian C, Zhang J, Wen F. Apolipoprotein E gene polymorphism and Alzheimer's disease in Chinese population: A meta-analysis. *Sci Rep*. 2014;4:4383. <https://doi.org/10.1038/srep04383>

31. Beydoun M, Boueiz A, Abougergi M, Kitner-Triolo M, Beydoun H, Resnick S, *et al.* Sex differences in the association of the apolipoprotein E epsilon 4 allele with incidence of dementia, cognitive impairment, and decline. *Neurobiol Aging*. 2012;33:720-31. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.05.017>
32. Altmann A, Tian L, Henderson V, Greicius M. Sex modifies the APOE -related risk of developing Alzheimer disease. *Ann Neurol*. 2014;75:563-73. <https://doi.org/10.1002/ana.24135>
33. Dozzi-Brucki SM, Nitrini R. Cognitive impairment in individuals with low educational level and homogenous sociocultural background. *Dement Neuropsychol*. 2014;8:345-50. <https://doi.org/10.1590/S1980-57642014DN84000007>
34. Caixeta L. Dementia prevalence in an indigenous population from Brazilian Amazon. *Alzheimers Dement*. 2011;7:S604. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.05.1715>
35. Moreno DJ, Pino S, Ríos A, Lopera F, Ostos H, *et al.* Genetic ancestry and susceptibility to late-onset Alzheimer's Disease (LOAD) in the admixed Colombian population. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2017;31:225-31. <https://doi.org/10.1097/WAD.0000000000000195>

Artículo original

## Caracterización fenotípica de la retinitis pigmentaria asociada a sordera

Ángela Camila Paredes, Greizy López, Nancy Gelvez, Marta Lucía Tamayo  
Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** El síndrome de Usher es una alteración genética caracterizada por la asociación de retinitis pigmentaria y sordera. Sin embargo, hay casos con familias en las cuales, a pesar de presentarse dicha asociación, no se puede diagnosticar un síndrome de Usher ni ninguno otro.

**Objetivo.** Reevaluar fenotípicamente a 103 familias con diagnóstico previo de posible síndrome de Usher o retinitis pigmentaria asociada con sordera.

**Materiales y métodos.** Se revisaron las historias clínicas de 103 familias con un posible diagnóstico clínico de síndrome de Usher o retinitis pigmentaria asociada con sordera. Se seleccionaron las familias cuyo diagnóstico clínico no correspondía a un síndrome de Usher típico. Los afectados fueron valorados oftalmológica y audiológicamente. Se analizaron variables demográficas y clínicas.

**Resultados.** Se reevaluaron 14 familias cuyo diagnóstico clínico no correspondía al de síndrome de Usher. De las familias con diagnóstico inicial de síndrome de Usher típico, el 13,6 % recibieron uno posterior de “retinitis pigmentaria asociada con sordera”, de “otro síntoma ocular asociado con hipoacusia”, o en forma aislada en una misma familia, de “retinitis pigmentaria” o “hipoacusia”.

**Conclusiones.** Es fundamental el estudio familiar en los casos en que la clínica no concuerda con el diagnóstico de síndrome de Usher típico. En los pacientes con retinitis pigmentaria asociada con sordera, el diagnóstico clínico acertado permite enfocar los análisis moleculares y, así, establecer un diagnóstico diferencial. Es necesario elaborar guías de nomenclatura en los casos con estos hallazgos atípicos para orientar a médicos e investigadores en cuanto a su correcto manejo.

**Palabras clave:** retinitis pigmentaria; fenotipo; pérdida auditiva; trastornos sordoceguera; síndromes de Usher; diagnóstico clínico.

### Phenotypic characterization of retinitis pigmentosa associated with deafness

**Introduction:** There are several syndromes that associate retinitis pigmentosa with deafness or hearing loss. The most frequent is Usher syndrome, a genetic disorder of autosomal recessive inheritance, which, in some cases, is accompanied by vestibular dysfunction. However, there are cases of families that despite having retinitis pigmentosa associated with deafness, cannot be classified as Usher or other syndromes due to additional findings.

**Objective:** To reassess the phenotypes of 103 families previously diagnosed as possible Usher syndrome and/or retinitis pigmentosa associated with deafness.

**Materials and methods:** We conducted a descriptive and retrospective study by reviewing the medical records of 103 families with a probable clinical diagnosis of Usher syndrome and/or retinitis pigmentosa associated with deafness. Families whose clinical diagnosis did not correspond to the typical Usher syndrome were selected and evaluated ophthalmologically and audiologically. Demographic and clinical variables were analyzed.

**Results:** We selected and then reevaluated 14 families and 55 individuals as they did not correspond to a clinical diagnosis of Usher syndrome; 13.6% of the families initially considered to have typical Usher syndrome were later diagnosed with retinitis pigmentosa associated with deafness, another ocular symptom associated with hearing loss, retinitis pigmentosa, or isolated hearing loss in the same family.

**Conclusions:** Family studies are essential in cases where the symptoms do not match the typical Usher' syndrome. In the cases of retinitis pigmentosa associated with deafness, a correct clinical diagnosis allows for focusing on the molecular analyses to establish a differential diagnosis. The need for nomenclature guidelines on these atypical findings is relevant to aid physicians and researchers in the best approach to these cases.

**Key words:** Retinitis pigmentosa; phenotype; hearing loss; deaf-blind disorders; Usher syndromes; clinical diagnosis

**Recibido:** 11/06/2021

**Aceptado:** 25/02/2022

**Publicado:** 03/03/2022

#### Citación:

Paredes Ángela C, López G, Gelvez N, Tamayo ML. Caracterización fenotípica de la retinitis pigmentaria asociada con sordera. *Biomédica*. 2022;42:130-43. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6129>

#### Correspondencia:

Marta L. Tamayo, Carrera 7 No 40-62, edificio 32, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (601) 320 8320, extensión 2793  
mtamayo@javeriana.edu.co

#### Contribución de los autores:

Ángela Camila Paredes: recopilación de historias clínicas y escritura del manuscrito  
Greizy López y Nancy Gelvez: reclasificación de historias clínicas  
Marta Lucía Tamayo: diagnóstico clínico de familias seleccionadas  
Todas las autoras participaron en el análisis y la discusión de los resultados.

#### Financiación:

Este proyecto fue financiado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Cod.120372453645. Contrato 656-2015) en el marco del Programa de atención integral a familias con enfermedades huérfanas con componente visual y auditivo - AIVA.

#### Conflicto de intereses:

Las autoras declaramos que no hay conflicto de intereses.

La retinitis pigmentaria es una enfermedad genética que se caracteriza por pérdida de agudeza visual, ceguera nocturna y reducción del campo visual. El examen de fondo de ojo revela acumulación de pigmento con un aspecto de espículas de hueso (1,2). Su diagnóstico se basa en la documentación de la pérdida progresiva de la función de los fotorreceptores, lo que se evidencia con un electroretinograma, pruebas de campo visual y fotos de fondo de ojo mediante angiografía con fluoresceína (3,4). Actualmente, se conocen más de 80 genes asociados con esta enfermedad, los cuales se clasifican según el patrón de herencia (5,6).

La hipoacusia neurosensorial, por su parte, puede ser causada por un síndrome, una infección, un trauma o una malformación que altere el oído interno o la vía auditiva, o su funcionamiento, comprometiendo las células ciliadas cocleares y, consecuentemente, las neuronas ganglionares espirales (7). Aproximadamente, el 60 % de las hipoacusias son de origen genético y se han asociado con más de 50 genes (8).

La forma de asociación más común de retinitis pigmentaria e hipoacusia neurosensorial congénita es el síndrome de Usher, que es la causa más frecuente de sordera ciega en humanos (9,10), y que, según el tipo clínico, se asocia también con alteración de la función vestibular (11).

Es una condición de origen genético con un patrón de herencia autosómico recesivo, cuya prevalencia se calcula entre 3,5 y 6,2 casos por cada 100.000 habitantes (11). En Colombia, la frecuencia es de 3,2 por cada 100.000 habitantes: el 9,6 % con hipoacusia y el 10 % con ceguera (12-14).

Se han descrito tres tipos según los genes comprometidos y las manifestaciones clínicas, pero existen formas de la enfermedad que, debido al mecanismo de herencia, la historia natural de la enfermedad o algunas manifestaciones atípicas, no pueden catalogarse como síndrome de Usher (10,15). Usualmente, estos casos se clasifican como síndrome de Usher atípico y su confirmación requiere el estudio molecular, aunque en algunos se hallan signos que descartan la sospecha clínica (16).

El presente estudio descriptivo se hizo entre 2016 y 2017 en Bogotá, con el objetivo de revalorar fenotípicamente a 103 familias con un diagnóstico inicial de síndrome de Usher. En dicha revaloración, se encontraron 14 familias cuyo diagnóstico clínico no correspondía a un típico síndrome de Usher.

Se sabe que el diagnóstico clínico de las enfermedades genéticas es definitivo para su manejo y que una apropiada sospecha clínica permite solicitar oportunamente los estudios genéticos que permitan confirmar el diagnóstico. Sin claridad sobre el fenotipo, se dificulta la confirmación de la enfermedad y el inicio del tratamiento apropiado (17,18), lo que puede implicar una mayor morbilidad en algunos casos.

En este sentido, se concluyó que los médicos tratantes deben sospechar la presencia de dos condiciones genéticas independientes en un mismo individuo, las cuales simularían un síndrome específico, lo cual tiene un impacto en el enfoque diagnóstico que se adopte.

## **Materiales y métodos**

### ***Población de estudio***

En un estudio descriptivo y retrospectivo, se revisaron las historias clínicas de 103 familias sin relación entre ellas y con un posible diagnóstico clínico de síndrome de Usher. Estas familias habían sido incluidas y valoradas en el marco del “Programa de atención integral a familias con enfermedades huérfanas con componente visual y auditivo” (AIVA) del Instituto de Genética Humana de la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá.

Cabe señalar que previamente se habían hecho los estudios moleculares de estas familias, los cuales incluyeron el análisis de ligamiento de los genes asociados con el síndrome de Usher y la secuenciación de Sanger de las mutaciones más frecuentemente relacionadas con este. En dichos estudios, no se identificaron mutaciones ni hubo evidencia de ligamiento con alguno de los genes estudiados.

De las 103 familias, 14 no presentaban el fenotipo del síndrome de Usher clásico. Se analizaron 55 individuos con retinitis pigmentaria asociada con sordera o aislada, o con hipoacusia no sindrómica. Los individuos afectados fueron valorados por un oftalmólogo especialista en retina. Se hizo el examen de fondo de ojo y se complementó con exámenes paraclínicos como electroretinograma, campimetría y angiografía en los casos en que fue posible. Para valorar la pérdida auditiva, se practicó audiometría tonal y, en algunos casos, logaudiometría y timpanograma.

### ***Recolección y análisis de datos***

Se revisaron las historias clínicas de los 55 individuos pertenecientes a las 14 familias reclasificadas con el diagnóstico de retinitis pigmentaria asociada a sordera. Las variables analizadas fueron: edad al ingreso en el programa AIVA, lugar de nacimiento, sexo, edad de inicio del primer síntoma, edad de inicio de la hipoacusia, gravedad de la enfermedad y compromiso vestibular. La hipoacusia se clasificó según la edad de inicio en: congénita, desde el nacimiento; en lactantes, desde el mes de vida hasta los dos años; en preescolares, de 2 a 5 años de edad; en escolares, entre los 5 y los 11 años; en adolescentes, a partir de los 12 años; en adultos jóvenes, desde los 18 hasta los 29 años, y tardía, desde los 30 años.

Se diseñó una base de datos en Excel en la que se ingresaron variables como la edad de inicio de la retinitis pigmentaria y de la pérdida auditiva, los hallazgos oftalmológicos y el compromiso auditivo. Se aplicaron medidas de tendencia central y se calcularon las frecuencias relativas para cada una de las variables.

### ***Consideraciones éticas***

El estudio fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana. Todos los individuos incluidos firmaron el consentimiento informado, aceptando la recolección de datos de la historia clínica y su publicación.

## **Resultados**

Se seleccionaron y reevaluaron 14 familias de las 103 analizadas, a las cuales no les correspondía un diagnóstico clínico de síndrome de Usher.

Es decir, de las familias con diagnóstico inicial de síndrome de Usher típico, el 13,6 % recibieron uno posterior de “retinitis pigmentaria asociada con sordera”, de “otro síntoma ocular asociado con hipoacusia”, o en forma aislada en una misma familia, de “retinitis pigmentaria” o “hipoacusia”. Se analizaron en total 55 individuos pertenecientes a las 14 familias.

El 43,6 % de los individuos estaba en un rango de edad entre los 40 y los 49 años en el momento de inicio del estudio, con un promedio de 50 años y una moda de 35, 46 y 47 años. De los 55 estudiados, 23 (42 %) eran de sexo femenino y 32 (58 %) de sexo masculino, con una relación hombre-mujer de 1,4:1,0 y sin mayor prevalencia según el sexo.

En cuanto a la distribución geográfica, las familias provenían de diferentes regiones del país, pero principalmente de Bogotá y de zonas aledañas como Fusagasugá. Sin embargo, también se encontraron familias provenientes de poblaciones lejanas no relacionadas, de los departamentos de Meta, Santander, Antioquía y Boyacá. El 29 % correspondía a familias consanguíneas.

Los 55 individuos valorados se dividieron según sus evaluaciones clínicas y oftalmológicas en tres grupos: el primero incluyó los casos de retinitis pigmentaria (ya sea aislada, asociada a sordera o asociada a otro síntoma); el segundo, a aquellos individuos con otro síntoma ocular aislado o asociado a sordera, y el tercero, a aquellos con hipoacusia. En el cuadro 1 se describen las frecuencias en cada caso.

### **Compromiso auditivo**

En lo que respecta a la lateralidad de la hipoacusia, de un total de 36 individuos, el 8 % (3/36) tenía diagnóstico de hipoacusia unilateral; el 75 % (27/36) presentaba hipoacusia bilateral, y los datos del 17 % (6/36) de ellos no estaban disponibles.

En cuanto al tipo de pérdida auditiva, el 3 % (1/36) presentaba hipoacusia mixta, el 5 % (2/36), hipoacusia conductiva y, el 91 % (33/36), hipoacusia neurosensorial. En relación con la adquisición del lenguaje, el 3 % (1/36) presentaba hipoacusia perilingual, el 17 % (6/36), prelingual y, el 61 % (22/36), poslingual; del 19 % restante no pudo obtenerse información. En lo relacionado con el grado de compromiso auditivo, hubo una mayor frecuencia de hipoacusia profunda en el 36 % (13/36) de los casos, seguida por hipoacusia moderada en el 17 % (6/36) (cuadro 2). En la figura 1 se presenta la edad de inicio de la hipoacusia en los 36 individuos con esta condición.

**Cuadro 1.** Descripción global del compromiso visual y auditivo de los individuos afectados

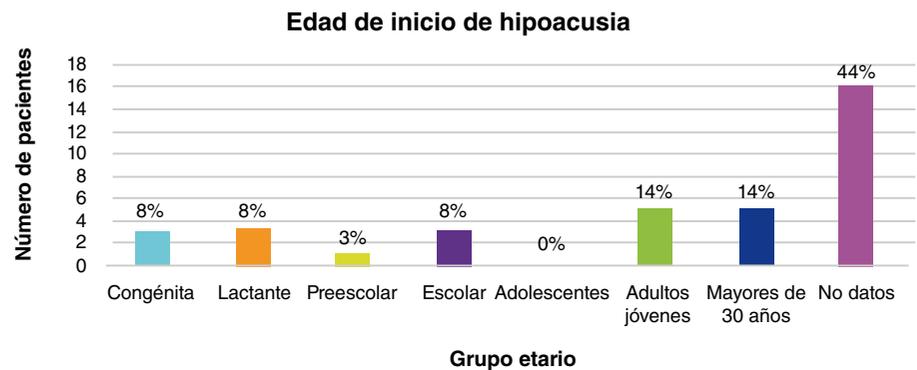
<b>Compromiso</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Individuos con retinitis pigmentaria	33	60
Retinitis pigmentaria aislada	13	39,4
Retinitis pigmentaria más sordera *	14	42,4
Retinitis pigmentaria más otro síntoma	6	18,2
Individuos con otro síntoma ocular	9	16,4
Otro síntoma ocular aislado	3	33,3
Otro síntoma ocular más sordera *^	6	66,7
Individuos con hipoacusia	36	65,5
Aislada	13	36,1
Asociada a otra sintomatología*	23	63,9

\* Las personas que comparten la sintomatología visual y auditiva fueron contabilizadas en las categorías señaladas.

^ Se encontraron tres personas con retinitis pigmentaria y estrabismo asociados a sordera.

**Cuadro 2.** Distribución del grado de compromiso auditivo (N=36)

Tipo de hipoacusia según grado de compromiso	
Grado de compromiso	n
Leve	2
Leve-moderada	1
Moderada	6
Moderada-grave	1
Moderada en oído izquierdo y grave en oído derecho	2
Normal en oído derecho y moderada en oído izquierdo	1
Normal en oído izquierdo y profunda en oído derecho	1
Grave	2
Grave-profunda	1
Profunda	13
Sin datos	6

**Figura 1.** Distribución de la edad de inicio de la hipoacusia

### Compromiso visual

El 76,4 % (42/55) de las personas analizadas presentaba algún compromiso ocular, y de estos, el 79 % (33/42) tenía retinitis pigmentaria, el 12 % (5/42), algún grado de disminución de la agudeza visual y, el 9 % (4/42), miopía. En la figura 2 se muestra la edad de inicio de la enfermedad de los 33 individuos con retinitis pigmentaria. Al comparar la edad de inicio de esta y de la sordera en los 14 individuos con la condición asociada a sordera, se observó que esta se había iniciado primero que la hipoacusia en todos los casos (figura 3).

En el cuadro 3 se presenta la caracterización de las 14 familias incluidas en el estudio con los síntomas identificados en cada caso. Se hallaron, además, dos individuos de sexo masculino de una misma familia con retinitis pigmentaria asociada a temblor distal y, en otra familia, un individuo con cofosis bilateral acompañada de microtia de grado I y un fenotipo llamativo con hipoplasia del tercio medio facial, paladar ojival, escoliosis y asteatosis, que no corresponden a un síndrome específico.

### Discusión

Uno de los objetivos del estudio era determinar una posible región geográfica donde estuviera concentrada la mayor cantidad de familias afectadas y, aunque la mayoría provenía del altiplano cundiboyacense (departamentos de Cundinamarca y Boyacá), también se encontraron familias de poblaciones lejanas. La concentración en esta región cercana a la capital se explicaría por la facilidad de acceso a los servicios de salud de alta complejidad, lo que produjo un sesgo en la recolección de datos.

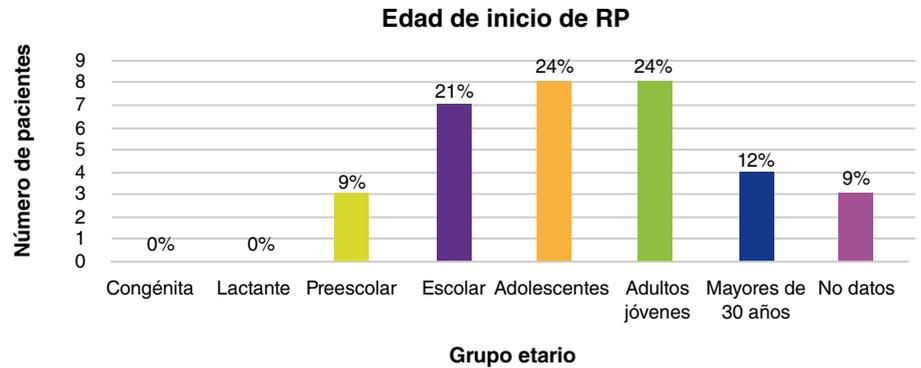
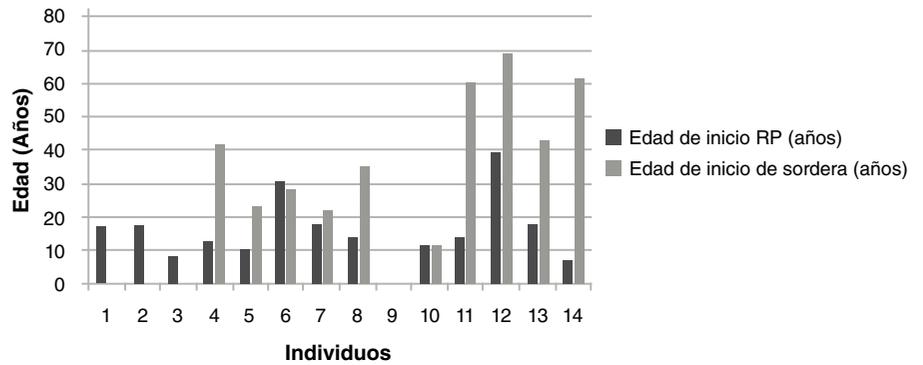


Figura 2. Distribución de la edad de inicio de la retinitis pigmentaria



Nota: Con respecto a los individuos 1 a 3, no se contó con los datos sobre la edad de inicio de la hipoacusia. El individuo 9 no informó la edad de inicio de los síntomas.

RP: retinitis pigmentaria

Figura 3. Edad de inicio de la retinitis pigmentaria y de la pérdida auditiva en casos de asociación de estas dos condiciones

Cuadro 3. Caracterización fenotípica de las 14 familias incluidas en el estudio

Familias	Manifestaciones clínicas						Total afectados
	Hipoacusia	Retinitis pigmentaria	Retinitis pigmentaria más hipoacusia	Otro síntoma ocular	Otro síntoma ocular más hipoacusia	RP+ Temblor distal	
1	1	1	2	1		2	7
2	2	4			1		7
3	1		1				2
4	2		1		1		4
5		1	1	1			3
6	4		6	2			12
7	1	1		2			4
8		2	2				4
9	2		1				3
10	2	1					3
11	1	2					3
12			1				1
13			1				1
14			1				1

RP: retinitis pigmentaria

Una de las principales causas de retinitis pigmentaria asociada a sordera es el síndrome de Usher, el cual se clasifica en tres tipos clínicos que varían según la edad de presentación de la condición, la gravedad de la hipoacusia, la progresión de las manifestaciones clínicas, y la asociación con otros signos y síntomas como el vértigo (1). Sin embargo, no toda hipoacusia con retinitis pigmentaria es un síndrome de Usher. Se han reportado casos de

familias con diagnóstico clínico de síndrome de Usher atípico, que presentan variantes moleculares en genes relacionados con otro síndrome, y también, familias en las que puede sospecharse que tales manifestaciones clínicas se presentan de forma concomitante, pero independiente (19,20).

En las 14 familias analizadas en este estudio, había 23 mujeres y 32 hombres afectados por retinitis pigmentaria o hipoacusia con una relación hombre-mujer de 1,4:1. La edad de presentación fue muy variable; en el caso de la hipoacusia, los individuos refirieron diferentes edades de inicio (figura 1). De los 36 individuos con hipoacusia, tres (8 %) presentaban hipoacusia congénita, en tres (8 %), la pérdida auditiva se inició en la lactancia, en uno (3 %), en edad preescolar, en tres (8 %), en edad escolar, en cinco (14 %), cuando eran adultos jóvenes y, en otros cinco (14 %), después de los 30 años. En 16 (44 %) de los casos no fue posible obtener esta información.

La edad de presentación de la hipoacusia es un aspecto clave para hacer el diagnóstico de síndrome de Usher (21), pues se trata de una enfermedad congénita (22,23) bilateral, symmetric retinal degeneration that begins with night blindness and constricted visual fields (tunnel vision). En nuestro caso, la mayoría de los individuos de la población seleccionada no cumplía con este criterio diagnóstico, por lo cual no era posible diagnosticarles síndrome de Usher. Sin embargo, puede existir la posibilidad de que los pacientes con hipoacusia congénita leve se diagnosticaran tardíamente, durante el primer año de vida o después de evidenciarse el trastorno del habla (24). Por otra parte, en el síndrome de Usher de tipo III, se ha descrito la aparición de hipoacusia en la segunda y cuarta décadas de la vida (25,26), lo cual puede dificultar el diagnóstico temprano.

En cuanto a la progresión de la hipoacusia, que es un criterio diagnóstico del síndrome de Usher de tipo III (27), se logró valorar periódicamente con audiometría y logaudiometría a 16 individuos y se encontró que 12 de ellos (75 %) cursaban con hipoacusia progresiva, en cuatro de los casos iniciada en la primera década de vida, en seis en la segunda y en dos en la tercera. Existe la posibilidad de que la hipoacusia se iniciara a edades más tempranas, pero dada la dificultad de los pacientes para detectar las pérdidas auditivas, estas se habrían reportado a edades más avanzadas.

De los 36 individuos con hipoacusia, el 78 % presentaba compromiso bilateral y, de estos, el 89 % fue diagnosticado con hipoacusia neurosensorial, el 4 % con la forma mixta y el 7 % con hipoacusia conductiva, que no puede descartarse como secundaria a múltiples episodios infecciosos de otitis media aguda en la infancia, no reportados por el afectado. En estos casos, debe tenerse especial cuidado al hacer el diagnóstico ya que, en un paciente con retinitis pigmentaria asociada con hipoacusia, esta asociación puede confundirse con el síndrome de Usher. Ante esta dificultad diagnóstica, es necesario hacer una anamnesis minuciosa y elaborar un árbol genealógico que revele los familiares afectados y sus edades, así como la edad de presentación y la consanguinidad.

En cuanto a la relación de la hipoacusia con la adquisición del lenguaje en los 36 individuos, se observó que la hipoacusia fue perilingual en el 3 % (1), prelingual en el 17 % (6), y poslingual en el 61 % (22); el promedio de edad de presentación fue de 21 años, por lo cual muchos de los individuos conservaban el lenguaje expresivo (28).

Tanto el síndrome de Usher de tipo I como el de tipo II, se caracterizan por hipoacusia prelingual con la subsecuente alteración del habla (29). Por otro lado, en el síndrome de Usher de tipo III, se ha descrito hipoacusia poslingual de leve a grave. Ahora bien, del total (22) de individuos con hipoacusia neurosensorial bilateral poslingual, el 72,7 % (16) presentaba hipoacusia moderada a grave. Además, la progresión también parece ser variable, pues se reporta en algunos pacientes y en otros no.

En general, en el tipo III todo parece ser variable, incluso la aparición de la retinitis pigmentaria puede darse en la primera o segunda década de la vida y, también, varía la presencia de alteración vestibular. Todo ello dificulta el diagnóstico basado en criterios clínicos. En este grupo, se seleccionaron aquellos con diagnóstico de retinitis pigmentaria y, en 13 (81 %) de ellos, fue necesaria la prueba molecular para confirmar la sospecha de síndrome de Usher de tipo III.

Al analizar todos los afectados por hipoacusia sola o asociada con otra manifestación clínica, el 76 % de los individuos con hipoacusia y el 93 % de aquellos con retinitis pigmentaria y sordera, tenían la forma poslingual con inicio en la edad adulta, lo cual tampoco corresponde a un diagnóstico de síndrome de Usher típico.

Un grupo de pacientes que presentaba miopía como único síntoma ocular de inicio en la tercera década de la vida, también tenía hipoacusia poslingual. En estos se descartó el síndrome de sordera asociado con miopía, ya que en esta condición la miopía suele ser mayor de 6 dioptrías y se presenta en la infancia (30,31), lo cual no fue el caso en los individuos de este estudio.

En el caso de los 33 individuos con retinitis pigmentaria, se reportaron diferentes edades de inicio, que variaron desde la edad preescolar hasta la adultez (32). No se encontraron casos de la forma congénita ni de inicio en la lactancia, como se observa en la figura 2, pues 8 (24 %) individuos presentaron la retinitis pigmentaria siendo adultos jóvenes y 8 (24 %) en la adolescencia, 7 (21 %) de ellos en edad escolar, 4 en la adultez (12 %) y 3 en preescolar (9 %). En los estudios consultados, la edad típica de inicio del síndrome de Usher de tipos I y II se registró en las primeras dos décadas de la vida (33). En un estudio de tres familias de la población de Newfoundland, hubo individuos que presentaron la retinitis pigmentaria después de la tercera década (34). Aunque es posible que fuera realmente tardía, también cabe considerar que se hubiera iniciado inicio en edades más tempranas, pero no se hubiera detectado por su progresión lenta, hasta llegar al punto en que los síntomas se hicieron evidentes. Para determinar esto con mayor certeza, se requeriría la valoración periódica desde el nacimiento mediante herramientas oftalmológicas que permitan un monitoreo más sensible de la enfermedad para, así, detectar cambios retinianos leves que puedan manejarse desde temprano, con el fin de ralentizar su progresión (35).

En el marco de proyectos previos de investigación de nuestro grupo y de otros, se ha observado que, en muchos individuos con retinitis pigmentaria, es frecuente encontrar el antecedente de miopía, la cual sí suele evidenciarse en edades tempranas. Ello no significa que toda retinitis pigmentaria se acompañe de miopía, ni que toda miopía derive en ella (36). El 46 % de los individuos analizados en el presente estudio coincidió en afirmar que presentaba una disminución de la agudeza visual diagnosticada tempranamente como miopía. Con el fin de establecer una posible asociación entre estos dos diagnósticos, se han realizado estudios de correlación entre

el genotipo y el fenotipo en pacientes con miopía y retinitis pigmentaria, y se han encontrado mutaciones en los genes *RP1*, *RPGR* y *RP2*, los cuales se relacionan con retinitis pigmentaria no sindrómica y miopía (37).

En cuanto a los individuos del presente estudio, es necesario hacer análisis moleculares para identificar posibles variantes asociadas con el fenotipo. Se ha planteado la teoría de que los cambios iniciales leves en el epitelio pigmentario de la retina, que se presentan en la distrofia de conos y bastones, pueden alterar la captación de señales luminosas y, por lo tanto, confundirse con un defecto de la refracción, en este caso, la miopía (38,39). También, se ha expuesto la hipótesis de que el depósito de pigmento conlleva degeneración de los fotorreceptores en modelos de ratón y se ha planteado que el compromiso de los fotorreceptores puede alterar el metabolismo de la dopamina asociado con la propensión a la miopía (40).

Sin embargo, en nuestra experiencia y en el seguimiento de esos casos, lo que se ha observado es que el paciente presenta inicialmente los signos clásicos de una miopía acusada, como la nictalopía, y varios años después comienzan a evidenciarse las espículas de hueso y el fenotipo correspondientes a la retinitis pigmentaria (41). Esta puede ser muy difícil de sospechar en sus estadios muy iniciales porque las manifestaciones clínicas pueden superponerse y porque, en algunos casos, el sitio inicial de compromiso de la retina puede ser la periferia (37,42,43).

Por otro lado, llama la atención que el 39 % (13) de los 33 individuos con retinitis pigmentaria refirió como primera manifestación ocular la nictalopía: seis en la primera década de vida, cinco en la segunda, uno en la tercera y uno en la sexta. Aunque esta podría deberse a la variabilidad de expresión de la retinitis pigmentaria (44), no se descarta que en quienes refieren nictalopía después de la segunda década de vida, ello se deba a que no pudieron identificar el síntoma de forma temprana; es usual que otras personas sean quienes observen en los sujetos afectados cambios en su desplazamiento en la penumbra, o caídas frecuentes en los niños. En estos casos, la demora en el diagnóstico se debe a que los pacientes consultan tardíamente, cuando ya hay otros síntomas.

En la población analizada, se encontró que 14 (25,5 %) individuos presentaban retinitis pigmentaria asociada a hipoacusia. Según lo recopilado en el registro médico y en el momento de ingreso al estudio, todos los sujetos con estas dos condiciones presentaron primero la retinitis, entre la segunda y la tercera décadas de la vida, y después el compromiso auditivo, lo que contradice lo descrito en la historia natural del síndrome de Usher (45) en el cual la hipoacusia es congénita y, por lo tanto, se sospecha y diagnostica más temprano, ya sea por tamizaje neonatal o por el seguimiento del desarrollo del lenguaje en los primeros años de vida.

En ninguna de las familias se pudo determinar un patrón claro de herencia autosómica recesiva, a pesar de que se reportó consanguinidad en el 29 % (16 individuos) en seis de las familias. El 71 % restante no presentaba consanguinidad y no pertenecía a comunidades endogámicas. Además, no se logró determinar una región geográfica común en los ancestros de las 14 familias. Considerando lo expuesto y dado que la herencia autosómica recesiva es el patrón de herencia característico del síndrome de Usher, a pesar de que los individuos analizados en este estudio tenían retinitis pigmentaria asociada a hipoacusia neurosensorial bilateral, no presentaban claramente un síndrome de Usher típico.

La variabilidad de expresión y la heterogeneidad genética dificultan el diagnóstico clínico de los individuos afectados. En la literatura se presentan casos en los cuales, aunque están presentes los criterios que definen un posible diagnóstico clínico de síndrome de Usher, el estudio molecular identifica variantes patogénicas asociadas con otros síndromes (26). También, se reportan individuos que no cumplen con todos los criterios clínicos para un diagnóstico de síndrome de Usher y que son clasificados como "Usher atípicos" porque son portadores de variantes patogénicas en genes asociados con esta condición (46).

Khateb, *et al.* (16), hicieron la secuenciación exómica y genómica de cinco individuos de tres familias de judíos yemeníes que presentaban degeneración retiniana y pérdida auditiva neurosensorial. Describieron dos hermanos con compromiso de retina después de los 50 años, atrofia en anillo del nervio óptico, acumulación de pigmento en la retina y posterior hipoacusia neurosensorial progresiva. En la segunda familia descrita, los hijos eran cuatro, un hombre y tres mujeres, dos de ellas afectadas por retinitis pigmentaria e hipoacusia aparecida en diferentes edades, incluso, en una de ellas el compromiso visual apareció en la segunda década de la vida. En la tercera familia, encontraron a dos hermanas afectadas por hipoacusia neurosensorial progresiva, una de ellas desde la infancia, con aparición posterior de la retinitis pigmentaria.

Las familias descritas son similares a las de nuestro estudio en cuanto a las edades de presentación atípicas de cada una de las manifestaciones clínicas, la presentación inicial de la retinitis pigmentaria y la aparición de hipoacusia progresiva después de la sexta década de la vida, sin compromiso vestibular. En estos casos, existe una alta sospecha de Usher atípico; sin embargo, no se pueden descartar otras causas, como ha sucedido en algunos estudios en los que se hallaron variantes patogénicas asociadas con enfermedad lisosómica mediante secuenciación de próxima generación (5,34).

Katheb, *et al.* (19), reportaron una familia consanguínea iraní de origen judío, en la que siete sujetos estaban afectados por diversos grados de compromiso auditivo y visual debido a degeneración retiniana leve en unos, y grave y temprana en otros. A pesar de la consanguinidad informada y del estudio de segregación, a los autores no les fue posible determinar un patrón de herencia específico en función del árbol genealógico.

En los árboles genealógicos de las familias del presente estudio, fue llamativo encontrar generaciones con individuos afectados solo por retinitis pigmentaria o solo por sordera, algunos de ellos con un patrón de herencia autosómico dominante en las primeras tres generaciones, ya fuera de retinitis pigmentaria o de hipoacusia, en tanto que, en la generación del probando, se encontró a un sujeto con esta condición acompañada de hipoacusia neurosensorial, lo cual no permite definir la enfermedad como un síndrome de Usher típico. En estos casos, es esencial identificar el gen o los genes implicados para, así, aclarar el diagnóstico clínico diferencial.

En algunos estudios, se ha reportado un fenotipo de hipoacusia neurosensorial aislada en individuos con mutaciones en los genes asociados con el síndrome de Usher, como es el caso de *MYO7A* y *CHDH23*, en los que algunos tipos de mutaciones específicas en el mismo gen determinan un fenotipo diferente en los individuos afectados: las mutaciones con cambio de sentido o con cambio del marco de lectura causan sordera no sindrómica (47), en tanto que, aquellas que generan proteína truncada dan lugar a un

fenotipo de síndrome de Usher (48,49). Esto puede estar presentándose en nuestra población de estudio, en la que diferentes tipos de mutaciones en un mismo gen probablemente han resultado en la afección de diversos dominios y en la generación de isoformas, lo cual se asocia con las diferentes presentaciones clínicas de la enfermedad en cada una de las familias.

Se han informado casos de distrofia de retina más retinitis pigmentaria pertenecientes a familias con más de un miembro afectado por hipoacusia neurosensorial, en quienes no se logra inicialmente identificar variantes de genes asociados con el síndrome de Usher, pero sí, al ampliar su estudio, de variantes de otros genes (46).

En el presente estudio se encontraron dos hombres de una misma familia que presentaban retinitis pigmentaria asociada con temblor distal. En el momento del estudio, ninguno tenía ataxia, ni antecedentes de hipotonía, ni otra alteración visual, como tritanopatía u oftalmoparesia, que permitiera hacer el diagnóstico de ataxia espinocerebelosa (*Spinocerebellar Ataxia*, SCA). En esta familia, será necesario caracterizar los síntomas neurológicos para hacer el diagnóstico preciso y descartar una SCA2 (50) o una SCA7 (51,52). En otra familia, se encontró un hombre con diagnóstico de cofosis bilateral, microtia de grado III y frente amplia, quien requiere seguimiento de genética clínica y un más completo estudio etiológico. Por último, no se encontraron individuos con alteración de la función vestibular en la población estudiada.

Se ha reportado que, a pesar de que muchos fenotipos concuerdan con los criterios diagnósticos de alguno de los tres tipos de síndrome de Usher, un número significativo de ellos no cumplen con todos los criterios. Por lo tanto, se ha recomendado establecer guías más precisas de nomenclatura de los individuos con estos genotipos y fenotipos atípicos (53).

En resumen, este estudio resalta la importancia de una caracterización fenotípica completa y detallada, no solamente del caso índice, sino también de los familiares. La evaluación completa del fenotipo retiniano ayuda a confirmar si se trata de una retinitis pigmentaria típica, que encaje en los criterios del síndrome de Usher. En tanto que la evaluación precisa y la correcta caracterización de la función vestibular y del fenotipo auditivo, así como la presencia de otras manifestaciones indicativas de una forma sindrómica similar al síndrome de Usher, son indispensables para apoyar el diagnóstico en cada caso. Por otra parte, la evaluación de los antecedentes familiares puede esclarecer mucho más el diagnóstico al evidenciar otro tipo de manifestaciones que pueden estar heredándose de forma independiente en las familias, lo que descartaría el diagnóstico de síndrome de Usher. Es fundamental el estudio familiar en los casos en los que la clínica no concuerda con las características del síndrome de Usher típico. En los casos de retinitis pigmentaria asociada a sordera, el diagnóstico clínico acertado permite orientarse hacia los análisis moleculares y, así, establecer un diagnóstico diferencial.

Se enfatiza la necesidad de elaborar guías de nomenclatura para los individuos con estos hallazgos atípicos, que permitan orientar a médicos e investigadores en el correcto manejo de estos casos.

Como limitaciones de este estudio, deben mencionarse el sesgo de memoria, frecuente en la variable de edad de inicio de los diferentes síntomas; y además, en la recolección de datos, principalmente aquellos sobre la posible afección en algunos individuos de la familia, así como en la recolección completa de la historia natural de las enfermedades de los pacientes.

## Agradecimientos

Al Instituto de Genética Humana de la Pontificia Universidad Javeriana, y a los pacientes y sus familias por participar en este estudio.

## Referencias

- Malm E, Ponjavic V, Möller C, Kimberling WJ, Andréasson S. Phenotypes in defined genotypes including siblings with Usher syndrome. *Ophthalmic Genet.* 2011;32:65-74. <https://doi.org/10.3109/13816810.2010.536064>
- Kaplan HJ, Wang W, Dean DC. Restoration of cone photoreceptor function in retinitis pigmentosa. *Transl Vis Sci Technol.* 2017;6:5. 10.1167/tvst.6.5.5 <https://doi.org/10.1167/tvst.6.5.5>
- Pakarinen L, Tuppurainen K, Laippala P, Mäntyjärvi M, Puhakka H. The ophthalmological course of Usher syndrome type III. *Ophthalmic Lit.* 1997;1:36. <https://doi.org/10.1007/BF00130927>
- Rabin J, Houser B, Talbert C, Patel R. Measurement of dark adaptometry during ISCEV standard flash electroretinography. *Doc Ophthalmol.* 2017;135:195-208. <https://doi.org/10.1007/s10633-017-9614-x>
- Puffenberger EG, Jinks RN, Sougnéz C, Cibulskis K, Willert RA, Achilly NP, *et al.* Genetic mapping and exome sequencing identify variants associated with five novel diseases. *PLoS ONE.* 2012;7:e28936. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028936>
- Parmeggiani F, Sorrentino F, Ponzin D, Barbaro V, Ferrari S, Di Lorio E. Retinitis pigmentosa: Genes and disease mechanisms. *Curr Genomics.* 2011;12:238-49. <https://doi.org/10.2174/138920211795860107>
- Berson EL, Rosner B, Simonoff E. Risk factors for genetic typing and detection in retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol.* 1980;89:763-75. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(80\)90163-4](https://doi.org/10.1016/0002-9394(80)90163-4)
- Cummings C, Fredrickson J, Harker L. *Otolaryngology: Head and neck surgery.* 4<sup>th</sup> edition. St Louis: Wiley Online Library; 2005. p. 2086-99.
- Boughman JA, Vernon M, Shaver KA. Usher syndrome: Definition and estimate of prevalence from two high-risk populations. *J Chronic Dis.* 1983;36:595-603. [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(83\)90147-9](https://doi.org/10.1016/0021-9681(83)90147-9)
- Cortés RA, Cenjor C, Ayuso C. Síndrome de Usher: aspectos clínicos, diagnósticos y terapéuticos. Tesis. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; 2004.
- Tamayo ML, Bernal JE, Tamayo GE, Frías JL, Alvira G, Vergara O, *et al.* Usher syndrome: Results of a screening program in Colombia. *Clin Genet.* 2008;40:304-11. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.1991.tb03100.x>
- Leal GL, Moyano NG, Tamayo ML. Definición de subtipos del síndrome de Usher en población colombiana. *Medicina (Mex).* 2010;32:285-94.
- Tamayo ML, Bernal JE, Tamayo GE, Frías JL. Study of the etiology of deafness in an institutionalized population in Colombia. *Am J Med Genet.* 1992;44:405-8. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320440403>
- Khan KN, El-Asrag ME, Ku CA, Holder GE, McKibbin M, Arno G, *et al.* Specific alleles of CLN7 / MFSD8, a protein that localizes to photoreceptor synaptic terminals, cause a spectrum of nonsyndromic retinal dystrophy. *Investig Ophthalmology Vis Sci.* 2017;58:2906. <https://doi.org/10.1167/iovs.16-20608>
- Neuhaus C, Eisenberger T, Decker C, Nagl S, Blank C, Pfister M, *et al.* Next-generation sequencing reveals the mutational landscape of clinically diagnosed Usher syndrome: Copy number variations, phenocopies, a predominant target for translational read-through, and PEX26 mutated in Heimler syndrome. *Mol Genet Genomic Med.* 2017;5:531-52. <https://doi.org/10.1002/mgg3.312>
- Khateb S, Kowalewski B, Bedoni N, Damme M, Pollack N, Saada A, *et al.* A homozygous founder missense variant in arylsulfatase G abolishes its enzymatic activity causing atypical Usher syndrome in humans. *Genet Med.* 2018;20:1004-12. <https://doi.org/10.1038/gim.2017227>
- Trouillet A, Dubus E, Dégardin J, Estivalet A, Ivkovic I, Godefroy D, *et al.* Cone degeneration is triggered by the absence of USH1 proteins but prevented by antioxidant treatments. *Sci Rep.* 2018;8:1968. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20171-0>

18. Orejas J, Rico J. Hipoacusia: identificación e intervención precoces. *Pediatría Integral*. 2013;17:330-42.
19. Khateb S, Zelinger L, Mizrahi-Meissonnier L, Ayuso C, Koenekoop RK, Laxer U, *et al*. A homozygous nonsense CEP250 mutation combined with a heterozygous nonsense C2orf71 mutation is associated with atypical Usher syndrome. *J Med Genet*. 2014;51:460-9. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2014-102287>
20. Namburi P, Ratnapriya R, Khateb S, Lazar CH, Kinarty Y, Obolensky A, *et al*. Bi-allelic truncating mutations in CEP78, encoding centrosomal protein 78, cause cone-rod degeneration with sensorineural hearing loss. *Am J Hum Genet*. 2016;99:777-84. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.07.010>
21. Ren SM, Wu QH, Chen YB, Jiao ZH, Kong XD. Variation analysis of genes associated with Usher syndrome type 1 in 136 Chinese deafness families. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2021;56:236-41. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn115330-20200407-00273>
22. Lentz J, Keats B. Usher syndrome type II. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, *et al*. (editors). *GeneReviews*®. Seattle: University of Washington; 2016. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1341/>
23. Lentz J, Keats BJ. Usher syndrome type I. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, *et al*. (editors). *GeneReviews*®. Seattle: University of Washington; 2016. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1265/>
24. Delgado JJ, Grupo PrevInfad/PAPPS infancia y adolescencia. Detección precoz de la hipoacusia infantil. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 2011;13:279-97.
25. Mathur P, Yang J. Usher syndrome: Hearing loss, retinal degeneration and associated abnormalities. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1852:406-20. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.11.020>
26. Eisenberger T, Slim R, Mansour A, Nauck M, Nürnberg G, Nürnberg P, *et al*. Targeted next-generation sequencing identifies a homozygous nonsense mutation in *ABHD12*, the gene underlying PHARC, in a family clinically diagnosed with Usher syndrome type 3. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7:59. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-7-59>
27. Bauer C, Jenkins H. Otologic symptoms and syndromes. In: Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT (editors). *Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery*. 6<sup>th</sup> edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. p. 2100-15.
28. Hildebrand MS, Husein M, Smith RJ. Genetic sensorineural hearing loss. In: Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT (editors). *Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery*. 6<sup>th</sup> edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. p. 1887-1903.
29. López G, Gélvez NY, Tamayo M. Frecuencia de mutaciones en el gen de la usherina (*USH2A*) en 26 individuos colombianos con síndrome de Usher, tipo II. *Biomédica*. 2011;31:82-90. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i1.338>
30. Ordóñez J, Tekin M. Deafness and myopia syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, *et al*. (editors). *GeneReviews*®. Seattle: University of Washington; 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK269029/>
31. Shearer AE, Hildebrand MS, Smith RJ. Hereditary hearing loss and deafness overview. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, *et al*. (editors). *GeneReviews*®. University of Washington, Seattle; 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1434/>
32. Nagase Y, Kurata K, Hosono K, Suto K, Hikoya A, Nakanishi H, *et al*. Visual outcomes in Japanese patients with retinitis pigmentosa and Usher syndrome caused by *USH2A* mutations. *Semin Ophthalmol*. 2018;33:560-5. <https://doi.org/10.1080/08820538.2017.1340487>
33. Testa F, Melillo P, Bonnet C, Marcelli V, De Benedictis A, Colucci R, *et al*. Clinical presentation and disease course of Usher syndrome because of mutations in *MYO7A* or *USH2A*. *Retina*. 2017;37:1581-90. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000001389>
34. Pater JA, Green J, O'Rielly DD, Griffin A, Squires J, Burt T, *et al*. Novel Usher syndrome pathogenic variants identified in cases with hearing and vision loss. *BMC Med Genet*. 2019;20:68. <https://doi.org/10.1186/s12881-019-0777-z>
35. Sun LW, Johnson RD, Langlo CS, Cooper RF, Razeen MM, Russillo MC, *et al*. Assessing photoreceptor structure in retinitis pigmentosa and Usher syndrome. *Investig Ophthalmology Vis Sci*. 2016;57:2428. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-18246>
36. Ayuso C, Millan JM. Retinitis pigmentosa and allied conditions today: A paradigm of translational research. *Genome Med*. 2010;2:34. <https://doi.org/10.1186/gm155>

37. Chassine T, Bocquet B, Daien V, Ávila-Fernández A, Ayuso C, Collin RW, *et al*. Autosomal recessive retinitis pigmentosa with *RP1* mutations is associated with myopia. *Br J Ophthalmol*. 2015;99:1360-5. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2014-306224>
38. Zhang Y, Wildsoet CF. The RPE in myopia development. In: Klettner AK, Dithmar S (editors). *Retinal pigment epithelium in health and disease*. Cham: Springer International Publishing; 2020. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-28384-1\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-28384-1_7)
39. Klettner AK, Dithmar S. *Retinal pigment epithelium in health and disease*. Cham: Springer International Publishing; 2020. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-28384-1>
40. Park H, Tan CC, Faulkner A, Jabbar SB, Schmid G, Abey J, *et al*. Retinal degeneration increases susceptibility to myopia in mice. *Mol Vis*. 2013;19:2068-79.
41. Gregory-Evans K, Pennesi ME, Weleber RG. Retinitis pigmentosa and allied disorders. In: Ryan SJ, Sadda SR, Schachat AP (editors). *Retina*. Los Angeles: Saunders; Elsevier; 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0737-9.00040-0>
42. Sánchez-Tocino H, Díez-Montero C, Villanueva-Gómez A, Lobo-Valentín R, Montero-Moreno JA. Phenotypic high myopia in X-linked retinitis pigmentosa secondary to a novel mutation in the *RPGR* gene. *Ophthalmic Genet*. 2019;40:170-6. <https://doi.org/10.1080/13816810.2019.1605385>
43. Lu Y, Sun X. Retinitis pigmentosa sine pigmento masqueraded as myopia: A case report (CARE). *Medicine (Baltimore)*. 2021;100:e24006. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000024006>
44. Dad S, Rendtorff ND, Tranebjaerg L, Grønskov K, Karstensen HG, Brox V, *et al*. Usher syndrome in Denmark: Mutation spectrum and some clinical observations. *Mol Genet Genomic Med*. 2016;4:527-39. <https://doi.org/10.1002/mgg3.228>
45. García-García G, Aparisi MJ, Jaijo T, Rodrigo R, León AM, Ávila-Fernández A, *et al*. Mutational screening of the *USH2A* gene in Spanish USH patients reveals 23 novel pathogenic mutations. *Orphanet J Rare Dis*. 2011;6:65. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-6-65>
46. Bashir R, Fatima A, Naz S. A frameshift mutation in *SANS* results in atypical Usher syndrome. *Clin Genet*. 2010;78:601-3. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2010.01500.x>
47. Adam M, Ardinger H, Pagon R, Wallace S, Bean L, Stephens K, *et al*. Nonsyndromic hearing loss and deafness, DFNA3. In: *GeneReviews*®. Seattle: University of Washington; 1998. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1536/>
48. Hildebrand M, Thorne N, Bromhead C, Kahrizi K, Webster J, Fattahi Z, *et al*. Variable hearing impairment in a DFNB2 family with a novel *MYO7A* missense mutation. *Clin Genet*. 2010;77:563-71. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2009.01344.x>
49. Faundes V, Pardo RA, Castillo-Taucher S. Genética de la sordera congénita. *Med Clínica*. 2012;139:446-51. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2012.02.014>
50. Antenora A, Rinaldi C, Roca A, Pane C, Lieto M, Saccà F, *et al*. The multiple faces of spinocerebellar ataxia type 2. *Ann Clin Transl Neurol*. 2017;4:687-95. <https://doi.org/10.1002/acn3.437>
51. Rossi M, Pérez-Lloret S, Doldan L, Cerquetti D, Balej J, Millar-Verneti P, *et al*. Autosomal dominant cerebellar ataxias: A systematic review of clinical features. *Eur J Neurol*. 2014;21:607-15. <https://doi.org/10.1111/ene.12350>
52. Giocondo F, Curcio G. Spinocerebellar ataxia: A critical review of cognitive and socio-cognitive deficits. *Int J Neurosci*. 2018;128:182-91. <https://doi.org/10.1080/00207454.2017.1377198>
53. Nolen R, Hufnagel R, Friedman T, Turriff A, Brewer C, Zalewski C, *et al*. Atypical and ultra-rare Usher syndrome: A review. *Ophthalmic Genet*. 2020;41:401-12. <https://doi.org/10.1080/13816810.2020.1747090>

Artículo original

## Desarrollo físico y neuropsicológico de pacientes diagnosticados con hipotiroidismo congénito en el Hospital Universitario San Ignacio entre los años 2001 y 2017

María Fernanda Unigarro<sup>1,2</sup>, Catalina Forero<sup>1,2</sup>, Camila Céspedes<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Pediatría, Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** El hipotiroidismo congénito es la principal causa de discapacidad cognitiva prevenible en el mundo. Para detectarlo se han desarrollado programas de tamización, con el fin de disminuir las secuelas neurológicas asociadas. El seguimiento y las evaluaciones a mediano y largo plazo de estos pacientes son fundamentales.

**Objetivo.** Describir las características demográficas, el tratamiento y el seguimiento de los pacientes con diagnóstico de hipotiroidismo congénito en el marco del programa de tamización del Hospital Universitario de San Ignacio en Bogotá, Colombia.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio observacional de corte transversal. La población de estudio fueron los pacientes con diagnóstico de hipotiroidismo congénito en el Hospital Universitario San Ignacio entre el 2001 y el 2017.

**Resultados.** Se contactó a 14 de los 19 pacientes con diagnóstico de hipotiroidismo congénito en el programa de tamizaje del Hospital. Los 14 niños estaban escolarizados, y la mayoría tenía el peso y la talla adecuados, aunque hubo talla baja en dos de ellos. El diagnóstico etiológico más frecuente fue hipoplasia tiroidea. Todos empezaron su tratamiento y el seguimiento oportunamente. La alteración más frecuente en las pruebas neuropsicológicas se registró en la memoria. El nivel de educación materno podría estar relacionado con el resultado anormal en el dominio del lenguaje.

**Conclusión.** En el presente estudio, las alteraciones en las pruebas de memoria fueron las más prevalentes; sin embargo, dado el diseño y el tipo de estudio, se requieren más investigaciones que permitan establecer asociaciones. El crecimiento y el desarrollo puberal presentaron una frecuencia baja de alteraciones.

**Palabras clave:** hipotiroidismo congénito; hormonas tiroideas; trastornos del neurodesarrollo; crecimiento; trastornos mentales.

### Neuropsychological and physical development of patients diagnosed with congenital hypothyroidism at the San Ignacio University Hospital between 2001 and 2017

**Introduction:** Congenital hypothyroidism is the leading cause of preventable cognitive disability in the world. Therefore, screening programs have been developed in order to reduce the neurological sequelae associated with this pathology.

**Objective:** To describe the demographic characteristics, the treatment, and the follow-up of patients diagnosed with congenital hypothyroidism in the screening program at the San Ignacio University Hospital in Bogotá, Colombia.

**Materials and methods:** We conducted an observational cross-sectional study. The study population was patients diagnosed with congenital hypothyroidism at the Hospital between 2001 and 2017.

**Results:** Fourteen of the 19 patients diagnosed with congenital hypothyroidism in the hospital screening program were contacted. All of the patients had schooling, most of them had adequate weight and height, and two had short stature. In most of them, the etiological diagnosis was thyroid hypoplasia, and all began the treatment and follow-up in an adequate way. The most frequent alteration in the neuropsychological tests was in the memory domain and the level of maternal education could be related to an abnormal result in the domain of language.

**Conclusion:** In our study, alterations in the memory tests were the most prevalent; however, due to the design and type of study, more research is required to establish associations. A low frequency of abnormal growth and puberty was found.

**Keywords:** Congenital hypothyroidism; thyroid hormone; neurodevelopmental disorders; growth; thyroid hormones; mental disorders.

**Recibido:** 27/09/2021

**Aceptado:** 10/03/2022

**Publicado:** 22/03/2022

#### Citación:

Unigarro MF, Forero C, Céspedes C. Desarrollo físico y neuropsicológico de pacientes con hipotiroidismo congénito en el Hospital Universitario San Ignacio, 2001-2017. *Biomédica*. 2022;42:144-53. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6334>

#### Correspondencia:

Camila Céspedes, Departamento de Pediatría, Hospital Universitario San Ignacio, Carrera 7 No 40-62, piso 7, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfonos: (320) 865 1249 y (601) 594 6161, extensión 2719  
[ccespedes@javeriana.edu.co](mailto:ccespedes@javeriana.edu.co)

#### Contribución de los autores:

María Fernanda Unigarro: recolección de datos  
Todos los autores participaron en la planeación del proyecto, la ejecución del protocolo de investigación, el análisis de las variables y la estructura del manuscrito.

#### Financiación:

Este proyecto recibió financiación de la Asociación Colegial Colombiano de Endocrinología Pediátrica para las pruebas neuropsicológicas, y apoyo del Hospital Universitario San Ignacio y la Pontificia Universidad Javeriana.

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

El hipotiroidismo congénito es la principal causa de discapacidad cognitiva prevenible. Por esta razón, a nivel mundial se han desarrollado programas de cribado, los cuales han sido fundamentales desde el punto de vista epidemiológico para disminuir las secuelas cognitivas asociadas con el hipotiroidismo no tratado. Esta es una condición que resulta de la disminución o ausencia de la actividad de las hormonas tiroideas en los tejidos, la cual comienza desde el nacimiento y puede ser secundaria a deficiencia en la producción o a resistencia frente a su acción (1,2).

Hay estudios que demuestran que el tratamiento de los pacientes a partir de las primeras dos a tres semanas de vida les permite tener un coeficiente intelectual normal, así como un crecimiento físico adecuado para su carga genética (3-5). En Colombia, se ha reportado una incidencia de uno de cada 2.183 nacidos vivos (3,6).

Los niños con hipotiroidismo congénito grave tienen alteraciones intelectuales significativas, comparados con la población general y con aquellos con hipotiroidismo moderado, pues sus puntajes cognitivos son más bajos, y presentan mayor inatención y menor desempeño verbal. También, se han observado menores logros en el aprendizaje, así como otras alteraciones del lenguaje y compromiso de la memoria autobiográfica (6-8).

En este contexto, el objetivo del presente estudio fue describir las características demográficas, el tratamiento y el seguimiento de los pacientes con hipotiroidismo congénito en el marco del programa de tamización del Hospital Universitario de San Ignacio en Bogotá, entre el 2001 y el 2017.

### **Materiales y métodos**

Se hizo un estudio observacional descriptivo y retrospectivo de la población de recién nacidos del Hospital con diagnóstico de hipotiroidismo congénito en el programa de tamización y que contaban con valoración actualizada de su desarrollo físico y su neurodesarrollo.

El protocolo contó con la aprobación del comité de investigaciones y ética institucional del Hospital. Esta fue la segunda fase de un estudio cuya primera etapa arrojó resultados que ya se encuentran publicados (6).

Se recolectaron los datos clínicos y demográficos mediante la revisión manual de las historias clínicas registradas en el sistema de administración de historias clínicas (SAHI). En los casos en los que la información fue insuficiente o no se encontraba disponible, esta se completó con los datos aportados por las familias en entrevistas telefónicas o virtuales, en las que también se explicó y se solicitó el diligenciamiento de los consentimientos y asentimientos informados para la realización de las pruebas neuropsicológicas, cuyos formatos se habían enviado por correo electrónico previamente.

En cuanto al seguimiento endocrinológico, se revisaron las historias clínicas, se compararon los resultados con el protocolo recomendado y se evaluó el cumplimiento de las citas de seguimiento. La gravedad del hipotiroidismo se calificó mediante los valores de T4L, según lo recomendado en la literatura especializada, como: grave,  $<0,38$  ng/dl; moderado:  $0,38$  a  $0,77$  ng/dl, y leve,  $>0,77$  ng/dl. Como parte del estudio etiológico, se evaluó la realización de ecografías y gammagrafías. En lo referente a las características del tratamiento, se recogió la información sobre este en el momento del diagnóstico y se preguntó a los pacientes o familiares la dosis diaria y por kg de peso formulada en el inicio del tratamiento, catalogándola como adecuada

o no según las recomendaciones publicadas (8). En cuanto a la oportunidad del tratamiento, se reportó la edad de inicio, considerándola adecuada o inadecuada con base en el punto de corte de los 15 días de vida.

La emergencia de salud pública por la pandemia de SARS-CoV2 limitó los encuentros presenciales, por lo que la talla y el peso registrados en el momento de inicio del estudio correspondieron a los datos reportados en la historia clínica más reciente, siempre y cuando la valoración no excediera los tres meses. En la mayoría de los pacientes, este no era el caso, por lo que los familiares desde casa tomaron el peso y la talla guiados mediante llamadas telefónicas bajo la supervisión de una de las investigadoras del estudio, para garantizar el uso correcto de la técnica de medición.

El neurodesarrollo se valoró mediante pruebas neuropsicológicas específicas para cada rango de edad (5 a 6 años, 6 a 16 años y mayores de 16 años), para lo cual se solicitó el diligenciamiento del consentimiento y el asentimiento informados al padre o la madre y a los niños mayores de 8 años, respectivamente. Se exploraron las áreas de atención, lenguaje, memoria verbal y visual y funciones ejecutivas (cuadro 1). El resultado de estas pruebas se expresó como una variable dicotómica, tanto en lo global como en cada una de las esferas evaluadas, clasificándolas como adecuadas o inadecuadas según el puntaje obtenido por los participantes y el concepto de la neuropsicóloga infantil.

Se describieron las variables cuantitativas de edad, edad gestacional, peso, talla, dosis de inicio por kg, edad de inicio del tratamiento y talla parental, las cuales se expresaron en medidas de tendencia central y de dispersión (media y desviación estándar, DE). Las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias y proporciones. Se utilizaron los programas Excel y Stata™, versión 12.0, para el análisis de los datos.

## Resultados

Se pudo contactar a 14 de los 19 pacientes con diagnóstico de hipotiroidismo congénito en el Hospital durante el periodo de estudio. De estos, nueve aceptaron participar en las pruebas neuropsicológicas.

La media de edad fue de 11,21 años (DE:  $\pm 3,94$  años) y fueron 10 pacientes de sexo femenino y 4 de sexo masculino. La información sociodemográfica se presenta en el cuadro 2. Solo un paciente fue un recién nacido prematuro, de 32 semanas de gestación. El promedio del peso al nacer fue de 2.797,3 kg (DE:  $\pm 579,9$  g); uno de los pacientes era pequeño para la edad gestacional y otro era grande.

**Cuadro 1.** Pruebas neurocognitivas realizadas a cada grupo de edad

Grupo de edad	Atención	Lenguaje	Memoria	Funciones ejecutivas
5 a 6 años	Búsqueda de símbolos WPPSI III/retención de dígitos ENI	Vocabulario WPPSI III/ información WPSI III	Curva ENI/figura de rey ENI - recuerdo inmediato	Comprensión WPPSI III/ reconocimiento de emociones ENI/ falsas creencias
6 a 16 años	Búsqueda de símbolos WISC IV/retención de dígitos WISC IV	Vocabulario WISC IV/ información WISC IV	Curva ENI/figura de rey ENI - recuerdo inmediato	Comprensión WISC IV/reconocimiento de emociones ENI
16 años en adelante	Búsqueda de símbolos WAIS III/ retención de dígitos WAIS III	Vocabulario WAIS III/ información WAIS III	Curva NEUROPSI/figura de rey - recuerdo inmediato	Comprensión WAIS II

WPPSI: Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence

ENI: Evaluación Neuropsicológica Infantil

WISC: Wechsler Intelligence Scale for Children

NEUROPSI: Evaluación neuropsicológica breve en español

**Cuadro 2.** Características sociodemográficas

Paciente	Sexo	Edad actual en años	Lugar de residencia	Régimen de salud
1	F	18	Urbano	Contributivo
2	F	17	Urbano	Contributivo
3	F	16	Urbano	Subsidiado
4	M	7	Urbano	Contributivo
5	M	14	Urbano	Contributivo
6	F	13	Urbano	Contributivo
7	F	10	Urbano	Contributivo
8	F	9	Urbano	Contributivo
9	F	8	Urbano	Contributivo
10	F	8	Urbano	Contributivo
11	M	8	Urbano	Contributivo
12	M	8	Rural	Contributivo
13	F	14	Urbano	Subsidiado
14	F	7	Urbano	Contributivo

**Cuadro 3.** Distribución por clasificación pondoestatural

	Pacientes (N=14)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	
Normal	11
Bajo peso	0
Sobrepeso	0
Obesidad	3
Talla	
Normal	11
Riesgo de baja talla	1
Talla baja	2

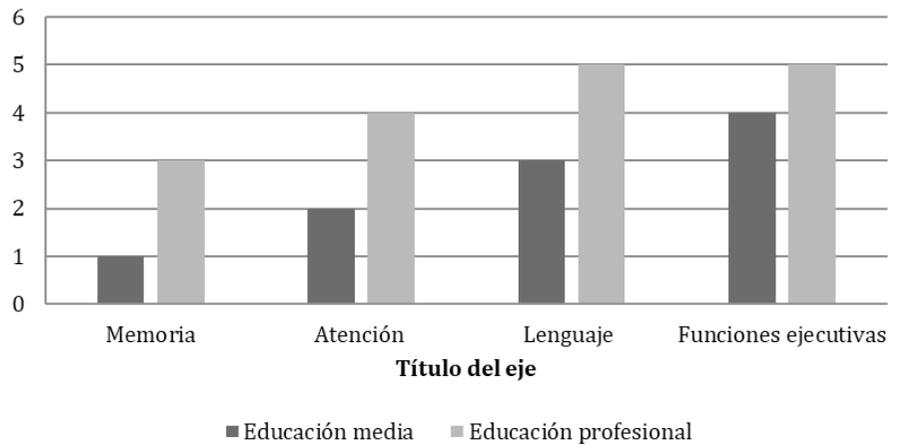
En cuanto al peso y la talla, la mayoría de los pacientes tenía un adecuado desarrollo pondoestatural. Se encontró obesidad en tres pacientes, uno de ellos con antecedentes de macrosomía fetal. En uno de los pacientes con talla baja se estableció que su estatura estaba acorde con la talla medioparental. La clasificación de Tanner de todos los pacientes correspondía a la edad, aunque en el seguimiento de una paciente se describió telarquia a los 7 años y 8 meses, pero con una menarquia normal (cuadro 3).

Todos los pacientes estaban escolarizados, 28.57 % en primaria, 64.28 % en secundaria y 7.1 % en educación superior, solo uno no tenía el nivel de escolaridad adecuado para su edad, debido a ausentismo por razones familiares y no por mal rendimiento. En lo referente a la escolaridad de madres y padres, todos contaban con algún nivel de educación, aunque la mayoría de los padres no eran profesionales (57 %). En las figuras 1 y 2 se puede observar la distribución de los niveles educativos maternos frente a los resultados normales o anormales en cada dominio de la prueba neuropsicológica.

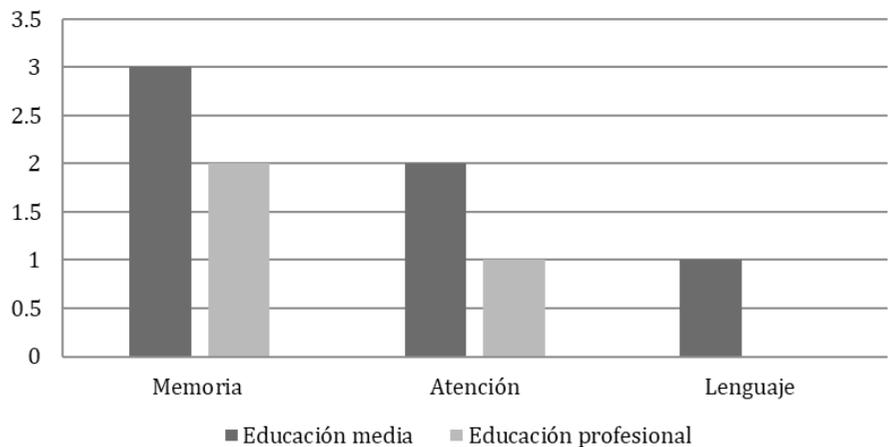
El promedio de edad de inicio del tratamiento fue a los 8 días de vida (DE:  $\pm 3,1$  días). En los 14 pacientes analizados, el tratamiento se inició a la edad adecuada. El promedio de la dosis de inicio por kilogramo de peso fue de 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Aunque un paciente recibió una dosis un poco menor que la ideal, debido a que la presentación del fármaco dificultaba su preparación y administración, todos los demás recibieron la dosis inicial adecuada. Todos los pacientes habían recibido tratamiento, por lo menos, hasta los siete años de edad, y dos lo suspendieron por indicación del endocrinólogo; de estos, uno continuó asistiendo a los controles y presentaba función tiroidea normal, aunque con un resultado global anormal en la prueba neuropsicológica y

en los dominios de memoria y atención; sus progenitores tenían un nivel educativo básico: su padre hasta básica primaria y, su madre, educación media. La otra paciente no asistió a los controles después de la suspensión del tratamiento y su escolaridad era inadecuada debido a su ausentismo; además, no aceptó hacer la prueba neuropsicológica.

En cuanto a las comorbilidades, tres de los pacientes presentaban condiciones como estreñimiento, reflujo vesico-ureteral y rinitis alérgica. A 11 de los pacientes se les practicó ecografía de tiroides: en seis de ellos, arrojó resultados normales y, en los cinco restantes, se evidenció hipoplasia tiroidea. Solo dos pacientes tenían datos de gammagrafía de tiroides: en uno de ellos se confirmó la hipoplasia tiroidea y en el otro caso se diagnosticó bocio (cuadro 5).



**Figura 1.** Distribución en números absolutos por nivel académico materno frente a resultado normal en las pruebas neuropsicológicas



**Figura 2.** Distribución en números absolutos por nivel académico materno frente a resultado anormal en las pruebas neuropsicológicas

**Cuadro 5.** Resultados de la ecografía de tiroides y la gammagrafía

	Pacientes (N=14)
Ecografía de tiroides	11
Normal	6
Anormal (hipoplasia tiroidea)	5
Gammagrafía de tiroides	2
Hipoplasia	1
Bocio	1

Con la información recolectada, se pudo establecer que tres de los pacientes habían asistido a su primer control después del inicio oportuno del tratamiento (según los criterios de la *American Academy of Pediatrics* - AAP) (8), y que, por lo menos, la primera consulta después del inicio del tratamiento se había hecho en el Hospital Universitario San Ignacio. Sin embargo, solo dos pacientes continuaron sus controles en este hospital: una de ellas tuvo seguimiento durante sus primeros cuatro años de vida, con consultas en los intervalos recomendados, pero después de esta edad, cambió de lugar de seguimiento. Durante sus controles en el Hospital, se constató un adecuado neurodesarrollo; actualmente, la paciente sufre de sobrepeso, tiene una escolaridad acorde para la edad y obtuvo un puntaje normal en todos los dominios de la prueba neuropsicológica. La otra paciente aún continúa asistiendo a sus citas de control en el Hospital y presentó retraso del neurodesarrollo, con compromiso de la motricidad gruesa y el lenguaje, por lo cual requirió seguimiento por neuropediatría, así como terapia física y del lenguaje en el primer año de vida; tuvo una adecuada evolución y su resultado global en la prueba neuropsicológica fue normal.

En cuanto a los hitos del desarrollo, la mayoría de los pacientes los alcanzaron oportunamente según lo referido por los padres. Solo se detectó un paciente que había recibido tratamiento en el primer año de vida, con retraso en el neurodesarrollo y compromiso de la motricidad gruesa y el lenguaje.

De los 14 pacientes que se contactaron, nueve aceptaron someterse a la prueba neuropsicológica, cuyos resultados se presentan en el cuadro 6. La mayoría de los pacientes tuvo resultados anormales en la prueba debido a alteraciones en alguno de los dominios valorados. Solo un paciente presentó alteraciones en todos los dominios, excepto en el de las funciones ejecutivas, por lo que fue remitido para valoración por neuropediatría y se sugirió hacerle la prueba de inteligencia. Los demás pacientes solo tuvieron alteraciones en uno de los ítems evaluados. El mayor número de alteraciones se presentó en el dominio de la memoria; en la valoración clínica de la neuropsicóloga se sugirió una evaluación neuropsicológica completa de los cinco pacientes con baja puntuación en memoria, y una prueba cognitiva para los cuatro con alteraciones de la atención. De los pacientes analizados, solo uno tuvo resultados anormales en la prueba de lenguaje y ninguno tuvo alteraciones en el dominio de las funciones ejecutivas.

## Discusión

El hipotiroidismo congénito no tratado es la causa más común de retraso mental, el cual se puede prevenir mediante un tratamiento temprano (3,7,9). En algunos estudios de cohorte, se ha descrito que los niños con hipotiroidismo congénito grave incluso con tratamiento pueden presentar alteraciones neurocognitivas, con puntajes menores en las pruebas de neurodesarrollo, alteraciones de la atención y retraso en el desarrollo verbal, comparados con los niños sin hipotiroidismo (9,10).

En otros estudios, como el de Baysal, *et al.*, se concluyó que el estado de desarrollo neurológico de pacientes con hipotiroidismo congénito tratado no fue significativamente diferente al de sus compañeros no afectados (11). En el presente estudio, la evaluación de los hitos de desarrollo de la mayoría de ellos se hizo en la entrevista con los padres, no con base en la historia clínica, y se encontró que en 13 de los 14 pacientes reportaban un neurodesarrollo normal, aunque pudo haber un sesgo de memoria en dicha valoración. Sin embargo, si se presentaba alguna alteración, esta debió ser sutil, pues, en general, los padres recuerdan los problemas mayores.

**Cuadro 6.** Distribución por resultado de la prueba neuropsicológica global y por dominios

	<b>Pacientes (N=14)</b>
Prueba neuropsicológica	
Normal	3
Anormal	6
Prueba de memoria	
Normal	4
Anormal	5
Prueba de memoria verbal auditiva	
Normal	6
Anormal	3
Prueba de memoria visual	
Normal	8
Anormal	1
Prueba de lenguaje	
Normal	8
Anormal	1
Prueba de atención	
Normal	5
Anormal	4
Prueba de atención sostenida	
Normal	6
Anormal	3
Prueba de memoria de trabajo	
Normal	5
Anormal	4
Prueba de volumen de retención	
Normal	5
Anormal	4
Prueba de funciones ejecutivas	
Normal	9
Anormal	0

En otro estudio, Komur, *et al.*, señalaron que ni la dosis ni el día de inicio del tratamiento con medicamentos de suplencia para el hipotiroidismo, ni la gravedad de la enfermedad o el tiempo de normalización de la hormona estimulante de la tiroides, tuvieron efectos estadísticamente significativos sobre el desarrollo neurológico del grupo de estudio ( $p > 0,05$ ) (10). En el presente estudio, se encontró un caso de dificultad para alcanzar los hitos del desarrollo que requirió terapia de apoyo durante el primer año, a pesar de que la paciente recibía el tratamiento con levotiroxina en la dosis adecuada y el tiempo recomendado; cuando se revisó la evolución del perfil tiroideo se encontró que se había requerido un mes para normalizar las pruebas (10). Esta paciente hoy tiene un excelente rendimiento escolar y su prueba neuropsicológica fue normal.

Se ha informado que el hipotiroidismo congénito está asociado con un deterioro del desarrollo neurológico en pacientes diagnosticados en el marco de programas de cribado neonatal (12). En este estudio, se encontró que, de los seis pacientes con pruebas neuropsicológicas anormales, tres tenían hipotiroidismo leve en el momento del diagnóstico, dos, hipotiroidismo moderado, y uno, hipotiroidismo grave (gravedad establecida por los niveles de T4L: grave,  $< 0,38$  ng/dl; moderado,  $0,38$  a  $0,77$  ng/dl, y leve,  $> 0,77$ ) (12). Se encontró que los niños con hipotiroidismo congénito presentaron algunas alteraciones en las pruebas específicas de memoria verbal, memoria auditiva y atención, a pesar de que todos iniciaron el tratamiento con las dosis recomendadas antes de los 15 días de vida. En aquellos que hicieron las pruebas neuropsicológicas, hubo alteraciones en varias de las áreas evaluadas.

El paciente con hipotiroidismo grave en el momento del diagnóstico tuvo que ser remitido a neuropediatría y se le hizo la prueba de inteligencia, ya que tenía puntajes muy bajos en todos los dominios, excepto en el de las funciones ejecutivas. No se contó con el seguimiento de la función tiroidea de este paciente, pero el tiempo y la dosis de inicio del tratamiento fueron adecuados y aún recibe suplencia hormonal con 50 µg diarios de levotiroxina. Esto concuerda con lo descrito en la literatura con respecto al impacto de la gravedad del hipotiroidismo al nacer, a pesar del diagnóstico y el tratamiento tempranos.

En cuanto a la prueba de lenguaje, en un estudio del 2020 de Lamônica, *et al.*, se compara el desempeño de las habilidades motoras gruesas, la motricidad fina adaptativa, la lingüística, la cognitiva, y el desarrollo personal y social de niños con hipotiroidismo congénito tratados desde el período neonatal, con el de sus pares sin alteraciones tiroideas. Los autores concluyen que, al comparar los resultados de las pruebas de detección del desarrollo de Denver 2, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos en las áreas de lenguaje y motricidad fina y gruesa. En el presente estudio, se describe la alteración en las pruebas de lenguaje de uno de los pacientes, que tenía hipotiroidismo grave en el diagnóstico (13).

En otro estudio se señala que, a medida que aumenta el nivel de educación de las madres, también aumentan las puntuaciones de desarrollo del lenguaje, y nuestros resultados sugieren algo similar: de los tres pacientes con hipotiroidismo congénito grave, se pudo contactar a dos, cuyos resultados en la prueba neuropsicológica fueron: uno anormal, incluso en el dominio de lenguaje, y el otro con una prueba normal en todos los dominios. La madre del paciente con resultados anormales, incluso en el dominio del lenguaje, tenía un nivel de educación medio, en tanto que la madre del paciente con prueba normal tenía educación superior (10,11).

Se ha descrito que los niños con bajas concentraciones de TSH presentan disminución de la atención sostenida en la edad escolar (4). Por nuestra parte, pudimos establecer que los pacientes que tuvieron un seguimiento oportuno y un adecuado control de la enfermedad no presentaron alteraciones en las pruebas neuropsicológicas; sin embargo, no fue posible establecer la variabilidad de los valores séricos de TSH y T4I con el tratamiento durante el seguimiento, pues no se contaba con todos los datos, lo que resalta la necesidad y la pertinencia de centralizar el seguimiento de estos pacientes.

En su estudio, Dalili, *et al.*, compararon el crecimiento y el desarrollo de los pacientes con hipotiroidismo congénito y el de niños sanos de la misma edad, área geográfica, y clase social y económica a los cuatro años (ajustado por variables sociodemográficas). Las características demográficas, incluida la altura, el peso y la circunferencia de la cabeza al nacer, el tiempo de seguimiento (a cuatro años) y el coeficiente intelectual, se registraron mediante diferentes pruebas. Entre 28.904 recién nacidos examinados, se encontraron 37 pacientes con hipotiroidismo congénito. Los pacientes diagnosticados mediante cribado neonatal y tratados tuvieron un crecimiento normal, como el de la población general. No obstante, los autores señalan que probablemente no se encontraron diferencias significativas debido al tamaño de la muestra (2).

En ese orden de ideas, en el presente estudio, el peso, la talla y el índice de masa corporal (IMC) de la mayoría de los pacientes fueron normales. Un

pequeño porcentaje presentaba riesgo de talla baja o talla baja, sin embargo, por lo menos, uno de los casos podría corresponder a talla baja familiar, aunque, lamentablemente, no hubo seguimiento endocrinológico de estos pacientes a lo largo del tiempo, lo que dificulta la interpretación de nuestros resultados.

En cuanto al diagnóstico etiológico de los pacientes que tenían resultados de exámenes complementarios, no se encontró ninguno con diagnóstico de ectopia, a pesar de que esta es la causa más frecuente de hipotiroidismo congénito (2).

Como ya se ha comentado, es clara la necesidad de centralizar el seguimiento de estos pacientes para establecer de una forma más precisa el impacto del programa de tamizaje neonatal en todos sus aspectos (detección, tratamiento, seguimiento).

### Agradecimientos

A los pacientes y a sus familias, por su colaboración y disposición. A las neuropsicólogas Diana Matallana, por su orientación en la valoración neuropsicológica, y Marcela León, quien realizó las pruebas a los pacientes. A Darío Parra, por su apoyo en el uso del Stata™, y a la Asociación Colegio Colombiano de Endocrinología Pediátrica – ACCEP, por el apoyo financiero para la realización de las pruebas neuropsicológicas.

### Referencias

1. Bernal J, Guadaño-Ferraz A, Morte B. Perspectives in the study of thyroid hormone action on brain development and function. *Thyroid*. 2003;13:1005-12. <https://doi.org/10.1089/105072503770867174>
2. Dalili S, Rezvani SM, Dalili H, Mohtasham-Amiri Z, Mohammadi H, Abrisham-Kesh S, *et al*. Congenital hypothyroidism: Etiology and growth-development outcome. *Acta Med Iran*. 2014;52:752-6.
3. Tillotson SL, Fuggle PW, Smith I, Ades AE, Grant DB. Relation between biochemical severity and intelligence in early treated congenital hypothyroidism: A threshold effect. *BMJ*. 1994;309:440-5. <https://doi.org/10.1136/bmj.309.6952.440>
4. García-Morales L, Rodríguez-Arnao MD, Rodríguez-Sánchez A, Dulín-Íñiguez E, Álvarez-González MA. Sustained attention in school-age children with congenital hypothyroidism: Influence of episodes of overtreatment in the first three years of life. *Neurologia (Engl ed)*. 2020;35:226-32. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2017.08.003>
5. Khammarnia M, Siakhulak FR, Ansari H, Peyvand M. Risk factors associated with congenital hypothyroidism: A case-control study in Southeast Iran. *Electron Physician*. 2018;10:6286-91. <https://doi.org/10.19082/6286>
6. Peñaloza L, Forero C, Céspedes C. Caracterización de pacientes con hipotiroidismo congénito en el Hospital Universitario San Ignacio entre 2001 y 2017. *Biomédica*. 2020;40:528-33. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5334>
7. Jones JH, Gellén B, Paterson WF, Beaton S, Donaldson MD. Effect of high versus low initial doses of L-thyroxine for congenital hypothyroidism on thyroid function and somatic growth. *Arch Dis Child*. 2008;93:940-4. <https://doi.org/10.1136/adc.2007.120618>
8. Rahmani K, Yarahmadi S, Etemad K, Koosha A, Mehrabi Y, Aghang N, *et al*. Congenital hypothyroidism: Optimal initial dosage and time of initiation of treatment: A systematic review. *Int J Endocrinol Metab*. 2016;14:e36080. <https://doi.org/10.5812/ijem.36080>
9. Núñez A, Bedregal P, Becerra C, Grob L F. Neurodevelopmental assessment of patients with congenital hypothyroidism. *Rev Med Chil*. 2017;145:1579-87. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872017001201579>
10. Komur M, Ozen S, Okuyaz C, Makharoblidze K, Erdogan S. Neurodevelopment evaluation in children with congenital hypothyroidism by Bayley-III. *Brain Dev*. 2013;35:392-7. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2012.07.003>

11. Baysal BT, Baysal B, Genel F, Erdur B, Ozbek E, Demir K, *et al.* Neurodevelopmental outcome of children with congenital hypothyroidism diagnosed in a national screening program in Turkey. *Indian Pediatr.* 2017;54:381-4. <https://doi.org/10.1007/s13312-017-1111-5>
12. van Trotsenburg P, Stoupa A, Léger J, Rohrer T, Peters C, Fugazzola L, *et al.* Congenital hypothyroidism: A 2020-2021 Consensus Guidelines Update-An ENDO-European Reference Network Initiative Endorsed by the European Society for Pediatric Endocrinology and the European Society for Endocrinology. *Thyroid.* 2021;31:387-419. <https://doi.org/10.1089/thy.2020.0333>
13. Lamônica DAC, Anastácio-Pessan FDL, Ferraz PMDP, Ribeiro CDC. Performance in motor, communicative and cognitive skills of girls with congenital hypothyroidism treated from the neonatal period. *Codas.* 2020;32:e20190017. <https://doi.org/10.1590/2317-1782/20192019017>

Artículo original

## Caracterización molecular de pacientes con cáncer colorrectal

Carlos Humberto Afanador<sup>1</sup>, Katherine Andrea Palacio<sup>1</sup>, Luis Fernando Isaza<sup>2,3,4</sup>, Enoc Ahumada<sup>5</sup>, Carlos Mauricio Ocampo<sup>2</sup>, Carlos Mario Muñetón<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Genética Médica, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Hospital Fundación San Vicente de Paúl, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Clínica Las Vegas, Medellín, Colombia

<sup>5</sup> Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introducción.** El cáncer colorrectal tiene una alta incidencia en la población mundial. Diversas vías moleculares están involucradas en su desarrollo, entre ellas, la inestabilidad cromosómica, la inestabilidad microsatelital y la epigenética.

**Objetivo.** Hacer la caracterización molecular de 44 individuos con cáncer colorrectal esporádico.

**Materiales y métodos.** El análisis de mutaciones en los genes *APC*, *KRAS*, *TP53* y *BRAF* se hizo mediante secuenciación de Sanger; la inestabilidad microsatelital se determinó mediante electroforesis capilar utilizando cinco marcadores de repetición corta en tándem (*Short Tandem Repeat*) y el estado de metilación del promotor del gen *MLH1* se hizo con la técnica MS-PCR (*Methylation-Specific PCR*).

**Resultados.** La frecuencia de mutación de los genes *APC*, *KRAS* y *TP53* fue del 18,1, 25 y 4,5 %, respectivamente; las mutaciones detectadas se localizaron con mayor frecuencia en el colon derecho. La frecuencia de inestabilidad microsatelital fue del 27,2 % y el 73,1 % en los tumores con metilación en el gen *MHL1*, y el 91,6 % de los tumores con inestabilidad microsatelital presentaba metilación en el gen *MLH1*. En el grupo de tumores con estabilidad microsatelital, las mutaciones en los genes *APC*, *KRAS* y *TP53* fueron más frecuentes que en el grupo de tumores con inestabilidad microsatelital. La metilación del gen *MLH1* fue la alteración más predominante.

**Conclusiones.** En los pacientes con cáncer colorrectal evaluados se demostró la presencia de alteraciones moleculares en las diferentes vías genéticas, las cuales son comunes en su carcinogénesis. Los pacientes presentaron un perfil de mutaciones diferente al de otras poblaciones. Los hallazgos obtenidos en este estudio confirman la heterogeneidad molecular descrita en el desarrollo del cáncer colorrectal.

**Palabras clave:** neoplasias colorrectales/genética; genes supresores de tumor; oncogenes, heterogeneidad genética; inestabilidad de microsátélites; epigenómica.

### Molecular characterization of colorectal cancer patients

**Introduction:** Colorectal cancer has a high incidence in the world population. Different molecular pathways, such as chromosomal instability, microsatellite instability, and epigenetics are involved in its development.

**Objective:** To perform molecular characterization in 44 individuals with sporadic colorectal cancer.

**Materials and methods:** We conducted mutation analyses of the *APC*, *KRAS*, *TP53* y *BRAF* genes using Sanger sequencing techniques; microsatellite instability was determined by capillary electrophoresis with five STR genetic markers while the methylation status of the *MHL1* promoter gene was analyzed using methylation-specific PCR.

**Results:** *APC*, *KRAS*, and *TP53* genes mutation frequency was 18.1%, 25%, and 4.5%, respectively; the somatic mutations detected were located more frequently in the right colon. The frequency of microsatellite instability was 27.2% and 73.1% of the tumors had the *MHL1* gene methylated while 91.6% of microsatellite instability-positive tumors had the methylated *MLH1* gene. The mutation profile of microsatellite stability tumors *APC*, *KRAS*, and *TP53* genes was more frequent than in the microsatellite instability-positive tumors. The methylation of the *MLH1* gene was the most predominant molecular alteration.

**Conclusions:** We identified molecular alterations in different genetic pathways of the colorectal cancer patients evaluated, which are common in the carcinogenesis of this cancer. These patients showed a different mutational profile compared to other populations. Our findings confirm the molecular heterogeneity described in the development of colorectal cancer.

**Keywords:** Colorectal neoplasms/genetics; gene, tumor suppressor; oncogenes; genetic heterogeneity; microsatellite instability; epigenomics.

**Recibido:** 09/03/2021

**Aceptado:** 17/03/2022

**Publicado:** 17/03/2022

#### Citación:

Afanador CH, Palacio KA, Isaza LF, Ahumada E, Ocampo CM, Muñetón CM. Caracterización molecular de pacientes con cáncer colorrectal. *Biomédica*. 2022;42:154-71.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.5957>

#### Correspondencia:

Carlos Mario Muñetón, Unidad de Genética Médica, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Carrera 51A N° 62-42, Medellín, Colombia  
Teléfono: (604) 219 2379  
carlos.muneton@udea.edu.co

#### Contribución de los autores:

Carlos Humberto Afanador y Carlos Mario Muñetón: redacción del manuscrito  
Todos los autores participaron en el análisis y la discusión de los resultados.

#### Financiación:

El estudio fue financiado por la Universidad de Antioquia en el marco de la convocatoria programática en ciencias biomédicas y de la salud, Grupo de Genética Médica, CODI-CPT- 1231.

#### Conflicto de intereses:

Los autores no tienen ningún conflicto de intereses con respecto al manuscrito.

El cáncer colorrectal es una de las principales causas de muerte por cáncer en el mundo. En Colombia, es el cuarto cáncer más frecuente y el tercero en mortalidad para ambos sexos. Las variaciones geográficas del cáncer colorrectal son atribuibles a factores genéticos y ambientales, a la dieta y al estilo de vida, entre otros (1-3).

El 80 % de los casos de cáncer colorrectal son de tipo esporádico y el 20 % restante es de tipo familiar (3,4); las mutaciones germinales en los genes de reparación *MLH1* y *MSH2* originan el síndrome de Lynch (*Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer*), en tanto que las del gen *APC* causan la poliposis adenomatosa familiar (*Familial Adenomatous Polyposis*); ambos síndromes corresponden al cáncer colorrectal hereditario y presentan un patrón de herencia autosómico dominante (5). Entre los factores de riesgo que se asocian con el desarrollo de esta neoplasia, están la dieta, la obesidad, el consumo de carnes rojas, alcohol y cigarrillo, y la diabetes de tipo 2, entre otros (3,4).

El cáncer colorrectal se considera una enfermedad de gran heterogeneidad genética que se origina a partir de diferentes vías genéticas y epigenéticas (4-7). El modelo clásico de múltiples pasos en la progresión del adenoma hacia el carcinoma, propuesto por Fearon, *et al.*, involucra la inactivación de genes supresores de tumores, como el *APC*, el *TP53* y el *DCC*, y mutaciones en los oncogenes *KRAS*, *SMAD* y *BRAF*, las cuales conducen a una inestabilidad genómica; esta vía es conocida como supresora o de inestabilidad cromosómica (8). La vía de mutación también está involucrada en la carcinogénesis del cáncer colorrectal y se relaciona con mutaciones en los genes del sistema de reparación de bases mal apareadas (*Mismatch Repair System*, MMR) *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS1* y *PMS2*, los cuales inducen en los tumores con inestabilidad microsatelital (9). En el cáncer colorrectal esporádico, esta inestabilidad se presenta en el 15 al 20 % de los casos y ocurre principalmente por la metilación del promotor del gen *MLH1*, en tanto que, en individuos con cáncer colorrectal hereditario, como el síndrome de Lynch, se observa hasta en el 90 % de los casos (10,11). Otra vía implicada en el desarrollo del cáncer colorrectal es la epigenética, que se presenta por la metilación del promotor del gen *MLH1* (7,12,13). Las vías descritas confirman la heterogeneidad genética de este cáncer, por lo que es de gran importancia determinar la clasificación molecular de los pacientes mediante oncología molecular personalizada.

Por otra parte, los estudios epidemiológicos, histopatológicos y moleculares demuestran que el espectro de alteraciones moleculares que se presenta en el colon proximal, en el distal y en el recto, son diferentes, por lo que se propone que estas alteraciones en el cáncer colorrectal varían desde el colon proximal hasta el recto (14,15). Asimismo, se ha demostrado que en el colon proximal son frecuentes las inestabilidades microsatelitales, las mutaciones en el gen *BRAF* y la metilación del promotor del gen *MLH1*, en tanto que, en el colon distal, son más frecuentes las mutaciones en los genes *APC* y *TP53* y poco frecuentes las inestabilidades microsatelitales (15). Por el contrario, en el cáncer de recto no es común observar inestabilidades microsatelitales, metilación de *MLH1* ni mutaciones en el *BRAF* (14,15).

Dada la complejidad y heterogeneidad del cáncer colorrectal, en diversos estudios se subraya la importancia de identificar subgrupos moleculares de esta neoplasia con base en la detección de alteraciones moleculares en las vías descritas. Recientemente, un consorcio internacional (*Centers for Medicare*

and Medicaid Services) propuso un consenso molecular de subtipos de cáncer colorrectal, con una clasificación molecular más detallada y completa a partir de la integración de la información obtenida de los análisis de mutaciones, los cambios en el número de copias, el patrón de metilación, la expresión del microARN y la proteómica de 4.000 pacientes, cuyo resultado final definió un patrón de cuatro subtipos moleculares (CMS 1 a 4) (16). Este consorcio, además de describir las características genéticas de los tumores en el cáncer colorrectal, también las correlacionó con los datos clínico-patológicos de los pacientes y con el pronóstico de la enfermedad. Cabe mencionar que la clasificación propuesta significó un gran avance en su caracterización molecular.

Además, la caracterización molecular de los pacientes con cáncer colorrectal es de gran utilidad en el manejo clínico de la enfermedad, ya que algunas de las alteraciones moleculares descritas proporcionan información importante sobre la reacción de los pacientes a determinados tratamientos antineoplásicos, lo que permite la selección de la terapia más eficaz para cada individuo y podría aumentar su tasa de supervivencia. Es el caso específico del gen *KRAS*, este se considera un biomarcador importante para predecir la reacción a terapias anti-*EGFR*. Los pacientes con cáncer colorrectal metastásico sin mutaciones en el *KRAS*, tienen una mejor respuesta terapéutica con anticuerpos monoclonales anti-*EGFR*, como el panitumumab o cetuximab, en tanto que los pacientes que presentan un *KRAS* mutado son resistentes a estas terapias (4,17,18).

En este mismo sentido, la detección de la mutación *V600E* en el gen *BRAF* es también clave para predecir la respuesta a terapias con anticuerpos monoclonales, ya que los pacientes con esta mutación no tienen una buena respuesta a este tipo de tratamiento (4,18,19). Como ocurre con las mutaciones en los genes *KRAS* y *BRAF*, la determinación de la inestabilidad microsatelital en la respuesta terapéutica también es clínicamente importante porque los pacientes con este tipo de inestabilidad tienen un mejor pronóstico de supervivencia que quienes no la muestran lo son, es decir, son estables (4). Además, es útil para confirmar el diagnóstico molecular de pacientes y familias con sospecha de síndrome de Lynch o cáncer colorrectal no polipósico hereditario. Los hallazgos de estudios clínicos también informan que estos pacientes no mejoran con la terapia con 5-fluorouracilo, pero sí tienen una mejor respuesta terapéutica con oxiplatino (19,20). Por ello, se recomienda incluir el análisis de inestabilidad microsatelital en el diagnóstico molecular de pacientes con cáncer colorrectal.

El objetivo de nuestro estudio fue analizar mutaciones somáticas en los genes *APC*, *KRAS*, *BRAF* y *TP53*, y determinar la inestabilidad microsatelital y el patrón de metilación del gen *MLH1* en 44 pacientes colombianos con cáncer colorrectal esporádico, así como correlacionar los datos clínico-patológicos con los hallazgos moleculares.

## **Materiales y métodos**

### ***Pacientes y muestras***

Se hizo un estudio descriptivo de corte transversal. La población de estudio estuvo constituida por 44 pacientes, 27 mujeres y 17 hombres, con diagnóstico de cáncer colorrectal esporádico, procedentes del departamento de Antioquia, y con una media de edad de 60,5 años (rango: 12 a 90 años). Ningún paciente tenía historia familiar o personal de cáncer o tratamiento antineoplásico antes de la cirugía. Todos los estudios histopatológicos fueron revisados

y confirmados por un patólogo experto. A cada paciente se le solicitó la participación voluntaria en el estudio y la firma del consentimiento informado.

Los cirujanos recolectaron muestras del tejido del tumor primario y del tejido normal adyacente simultáneamente en cada caso, mediante resección quirúrgica en el Hospital Universitario San Vicente Fundación y la Clínica León XIII de Medellín entre el 2015 y el 2016. Cada muestra tumoral se dividió en dos porciones, una para el estudio histopatológico a cargo de un patólogo experto, y la otra se almacenó a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  para el posterior análisis molecular. La información personal y de los diagnósticos histopatológicos se obtuvo de las historias clínicas de los pacientes.

### **Análisis molecular**

*Extracción de ADN.* El ADN genómico se extrajo a partir de tejido tumoral y tejido normal de cada paciente, utilizando el estuche comercial QIAamp DNA Mini Kit™ (Qiagen, Hilden Germany) y siguiendo las recomendaciones del fabricante. El ADN se cuantificó en un espectrofotómetro NanoDrop 2000c Spectrophotometer™ (Thermo Scientific, USA) y, una vez extraído, se diluyó y se almacenó a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

*Amplificación del ADN y análisis de mutaciones en los genes APC, KRAS, BRAF y TP53.* El ADN extraído del tejido tumoral se amplificó por PCR en un termociclador Gene Amp PCR System 9700™ (Applied Biosystems, USA), utilizando cebadores específicos para cada gen. El análisis de mutaciones de los genes se realizó amplificando las regiones que son puntos clave (*hotspot*) para mutaciones somáticas en los genes *APC* (exón 15; región MCR), *KRAS* (exones 2 y 3), y *TP53* (exones 5-8). A todos los tumores con inestabilidad microsatelital positiva se les hizo el análisis de la mutación V600E en el exón 15 del gen *BRAF*, utilizando cebadores específicos para esta región. La reacción de la PCR se hizo en un volumen final de  $35\text{ }\mu\text{l}$  que contenía  $50\text{ ng}$  de ADN tumoral con las siguientes concentraciones: 1X de solución tampón de reacción 10X,  $1,05\text{ mM}$  de  $\text{MgCl}_2$ ,  $2\text{ }\mu\text{M}$  de dNTP,  $0,4\text{ }\mu\text{M}$  de cada iniciador y  $1,4\text{ U}$  de Taq ADN polimerasa (Invitrogen, Brasil). Los productos amplificados por la PCR se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2 %, teñidos con  $2\text{ }\mu\text{l}$  de GelRed, y se almacenaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la secuenciación.

*Análisis de inestabilidad microsatelital.* La inestabilidad microsatelital se analizó en el ADN extraído del tejido tumoral y del normal de cada paciente, y se evaluó con la amplificación por PCR de un panel de cinco marcadores STR previamente descritos (Bat-25, Bat-26, NR-21, NR-27 y NR-24) (11). Los tamaños alélicos del ADN tumoral y del normal se compararon y se analizaron mediante electroforesis capilar en un analizador genético ABI 3770. La inestabilidad microsatelital se determinó cuando se detectaron alelos en la muestra del ADN tumoral que no estaban presentes en la muestra del normal. Se definió como inestabilidad microsatelital alta (MSI-H) la presencia de dos o más marcadores inestables en el tumor; como inestabilidad microsatelital baja (MSI-L), la de un solo marcador inestable, y la estabilidad microsatelital, cuando no se detectaba ningún marcador inestable.

*Análisis de metilación en el gen MLH1 por MS-PCR.* El ADN tumoral se modificó con bisulfito de sodio, usando el estuche comercial EZ- DNA Methylation Direct Kit™ de Zymo Research y siguiendo las recomendaciones del fabricante. El ADN modificado se almacenó a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La metilación del promotor del gen *MLH1* se hizo con la técnica MS-PCR. El ADN tumoral

modificado con bisulfito de sodio se amplificó por PCR utilizando iniciadores específicos para regiones metiladas y no metiladas del promotor del gen *MLH1* en un termociclador Gene Amp PCR System 9700™ (Applied Biosystems, USA). La MS-PCR se hizo en un volumen final de 10 µl que contenía 2 µl de ADN modificado, solución tampón 1X, 1,5 µM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de dNTP, 0,4 µM de cada cebador y 0,8 µl de Taq polimerasa. Los productos amplificados de la MS-PCR se corrieron en electroforesis en geles de agarosa al 2 % teñidos con GelRed.

**Secuenciación.** Todos los productos de las PCR amplificadas se purificaron y secuenciaron directamente en ambas cadenas con el método Sanger. La secuenciación se hizo en un analizador genético ABI 3730xl DNA Analyzer Applied Biosystems™. Las secuencias obtenidas se editaron y analizaron con el programa Chromas Pro y se alinearon con las secuencias de referencia publicadas en el GenBank (NCBI), cuyos códigos de acceso son NT\_034772.6 (*APC*), NT\_009714.17 (*KRAS*), NT\_010718.16 (*TP53*) y NC\_000007.14 (*BRAF*). El análisis bioinformático de las variantes génicas detectadas también se realizó con las bases de datos del NCBI dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>), 1000 genomas y COSMIC.

### **Análisis estadísticos**

Los resultados se analizaron mediante el programa SPSS™, versión 23 (IBM Corp.). Con las pruebas de ji al cuadrado o con la corrección de continuidad de Yates y la prueba exacta de Fisher se exploró la asociación entre las mutaciones, los polimorfismos, la inestabilidad microsatelital y la metilación, y el diagnóstico histopatológico, la edad y el sexo. Todos los valores de p calculados fueron bilaterales y los  $p < 0,05$  se consideraron estadísticamente significativos.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Bioética para experimentación en humanos de la Universidad de Antioquia.

### **Resultados**

Se estudiaron 44 pacientes con cáncer colorrectal esporádico; la edad promedio fue de 60,5 años, con un rango entre los 12 y los 90 años. El 61,3 % (27/44) de los pacientes correspondía a mujeres y el 38,6 % (17/44), a hombres. El 81,8 % (36/44) tenía cáncer de colon y, el 11,3 % (5/44), de recto. Los datos de edad y sexo, y los hallazgos histopatológicos y moleculares de los pacientes analizados, se presentan en el cuadro 1.

La frecuencia de mutaciones en las 44 muestras analizadas fue del 47,7 % (21/44). Todas las mutaciones identificadas fueron por sustitución de bases. De estas, el 23,8 % (5/21) sin sentido y el 76,2 % (16/21) de sentido erróneo (cuadro 2). Las mutaciones detectadas fueron más frecuentes en mujeres (15/21) que en hombres (6/21) y se encontraron con mayor frecuencia en el colon ascendente, con el 52,3 % de los casos (11/21), seguido del colon transversal, con el 19 % (4/21), en tanto que el colon descendente y el recto presentaron la misma frecuencia de mutaciones, con el 14,2 % (3/21). Además, la frecuencia de polimorfismos en los genes evaluados fue alta; se identificaron en total cinco polimorfismos diferentes en las 44 muestras analizadas. El más frecuente fue el rs41115 (c.4479 G>A, p.Thr1493Thr), ubicado en el exón 15 del gen *APC* en el 75 % de las muestras (cuadro 3). Las mutaciones y los polimorfismos identificados en este estudio están reportados en las bases de datos COSMIC, SNP en NCBI y 1000 genomas.

**Cuadro 1.** Descripción general de edad, sexo y los hallazgos histopatológicos y moleculares en los 44 pacientes con cáncer colorrectal estudiados

	n (%)	APC n (%)		KRAS n (%)		TP53 n (%)		MSI n (%)		
		Normal	mutado	Normal	mutado	Normal	mutado	MSI-H	MSI-L	MSS
Número de pacientes	44	36 (81,8)	8 (18,1)	33 (75)	11 (25)	42 (95,4)	2 (4,5)	5 (11,3)	7 (15,9)	32 (72,7)
Edad media	60,5	57	58,5	57	47,5	57	62,5	68	57,1	61
Sexo										
Masculino	17 (38,6)	15 (34)	2 (4,5)	13 (29,5)	4 (9)	17 (38,6)	–	4 (9)	4 (9)	9 (20,4)
Femenino	27 (61,3)	21 (47,7)	6 (13,6)	20 (45,4)	7 (15,9)	25 (56,8)	2 (4,5)	1 (2,2)	3 (6,8)	23 (52,2)
Estadio										
I	8 (21,1)	7 (15,9)	1 (2,2)	7 (15,9)	1 (2,2)	8 (18,1)	–	1 (2,2)	2 (4,5)	5 (11,3)
II	13 (34,2)	11 (25)	2 (4,5)	12 (27,2)	1 (2,2)	11 (25)	2 (4,5)	3 (6,8)	1 (2,2)	9 (20,4)
III	6 (15,8)	5 (11,3)	1 (2,2)	5 (11,3)	1 (2,2)	6 (13,6)	–	–	–	6 (13,6)
IV	11 (28,9)	7 (15,9)	4 (9)	5 (11,3)	6 (13,6)	11 (25)	–	–	2 (4,5)	9 (20,4)
Tipo histológico										
Bien diferenciado	24 (54,4)	20 (45,4)	5 (11,3)	18 (40,9)	7 (15,9)	23 (52,2)	2 (4,5)	3 (6,8)	4 (9)	18 (40,9)
Moderadamente diferenciado	10 (22,7)	9 (20,4)	1 (2,2)	10 (22,7)	–	10 (22,7)	–	1 (2,2)	1 (2,2)	8 (18,1)
Mucinoso	5 (11,3)	3 (6,8)	1 (2,2)	2 (4,5)	3 (6,8)	5 (11,3)	–	1 (2,2)	–	4 (9)
Sarcoma miofibroblástico	1 (2,2)	–	1 (2,2)	–	–	–	–	–	–	–
Localización del tumor										
Colon ascendente	16 (36)	11 (25)	5 (11,3)	11 (25)	5 (11,3)	15 (34,0)	1 (2,2)	2 (4,5)	3 (6,8)	11 (25)
Colon transverso	5 (11,3)	4 (9)	1 (2,2)	2 (4,5)	3 (6,8)	5 (11,3)	–	1 (2,2)	1 (2,2)	3 (6,8)
Colon descendente	15 (34)	14 (40,9)	1 (2,2)	13 (38,6)	2 (6,8)	15 (43,1)	–	2 (4,5)	2 (4,5)	11 (36,3)
Recto	5 (11,3)	4 (9)	1 (2,2)	4 (9)	1 (2,2)	4 (9)	1 (2,2)	–	–	5 (11,3)

**Cuadro 2.** Mutaciones identificadas en los genes APC, KRAS y TP53 en los 44 pacientes con cáncer colorrectal evaluados

Gen	n	Sexo	Posición	Codón	Mutación	Cambio en aminoácidos	Tipo de cambio	Consecuencia
APC	1	F	c.4420A>G	1474	ACT→GCT	p.A1474T	Sustitución	Cambio de sentido
	3	F	c.4463 T>C	1488	TTA→TCA	p.L1488S	Sustitución	Cambio de sentido
	1	F	c.4562 G>T	1521	GAA→TAA	p.E1521*	Sustitución	Sin sentido
	1	F	c.4651A>T	1551	AAA→TAA	p.K1551*	Sustitución	Sin sentido
	2	M	c.4348C>T	1450	CGA→TGA	p.R1450*	Sustitución	Sin sentido
KRAS	6	4 F 2 M	c.35G>A	12	GGT→GAT	P.G12D	Sustitución	Cambio de sentido
	2	1 F 1 M	c.34G>A	12	GGT→AGT	P.G12S	Sustitución	Cambio de sentido
	3	2 F 1 M	c.38G>A	13	GGC→GAC	P.G13D	Sustitución	Cambio de sentido
TP53	1	F	c.493C>T	165	CAG→TAG	p.Q165*	Sustitución	Sin sentido
	1	F	c.546C>A	182	TGC→TGA	P.C182*	Sustitución	Sin sentido

\* Representa el codón de parada

**Cuadro 3.** Polimorfismos identificados en los genes APC, KRAS y TP53 en los 44 individuos con cáncer colorrectal analizados

GEN	n	%	Exón / Intrón	Posición c.ADN	Cambio en aminoácidos	SNP
APC	33	75	Exón 15	c.4479G>A	T1493T	rs41115
	1	2,3	Exón 15	c.4326 T>A	P1442P	rs67622085
KRAS	8	18,2	Intrón 2	c.111+190A>T	NA	rs12228277
TP53	9	20,5	Intrón 7	c.782+72C>T	NA	rs12947788
	9	20,5	Intrón 7	c.782+92T>G	NA	rs12951053

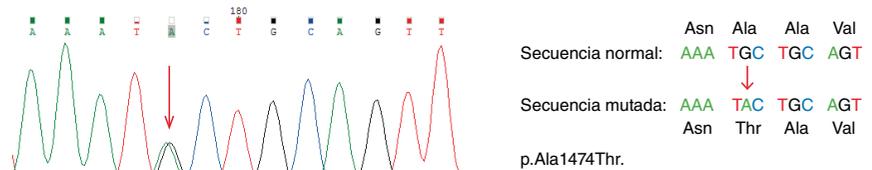
NA: no aplica

*KRAS* fue el gen más frecuentemente mutado, con el 25 % (11/44). Las mutaciones encontradas fueron más comunes en mujeres (7/11) que en hombres (4/11). Las mutaciones puntuales fueron más frecuentes en el codón 12 (72,7 %), que en el codón 13 (27,3 %) del exón 2; todas las mutaciones detectadas fueron del tipo de transiciones (cuadro 2). La mutación por sustitución más común (54,5 %) en el gen *KRAS* fue la c.35G>A p.G12D en el codón 12 (figura 1), seguida de la mutación c.38G>A, p.G13D en el codón 13, con el 27,3 %. Las mutaciones detectadas en este gen generaron un cambio de sentido en la secuencia de aminoácidos de la proteína y el 11,3 % se localizó en el colon ascendente, el 6,8 % en el colon transverso y descendente, y el 2,2 % en el recto. Se observó que el 13,6 % de las muestras de tumores con *KRAS* mutado estaba en estadio IV. Por otra parte, además de las secuencias obtenidas para este gen, también se identificó en el 18,2 % (8/44) de las muestras un polimorfismo en el intrón 2, el rs12228277 (c.111+190 A > T) (cuadro 3). Por el contrario, en el análisis de las secuencias en el codón 61 del exón 3 del *KRAS*, no se identificaron mutaciones o polimorfismos, como tampoco se encontró la mutación V600E del gen *BRAF* en las muestras de tumores con *KRAS* mutado.

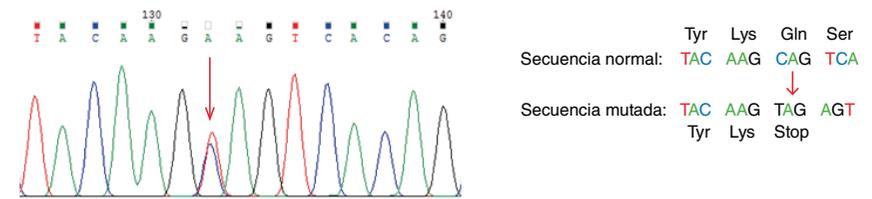
a. *KRAS*: Exón 2, transición G>A codón 12, p.G12D



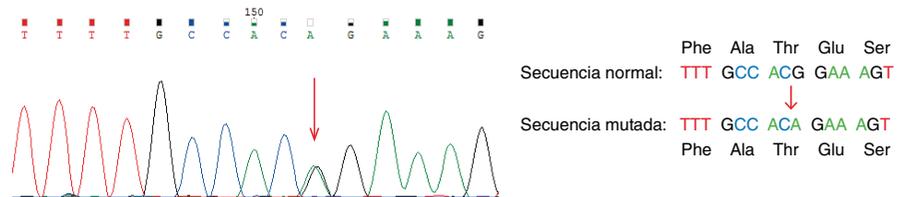
b. *APC*: Exón 15, transversión G>A codón 1474,



c. *TP53*: Exón 5, transversión C>T codón 165, p.Q165stop.



d. *APC*: Exón 15, polimorfismo c.4479 G>A, p.T1493T



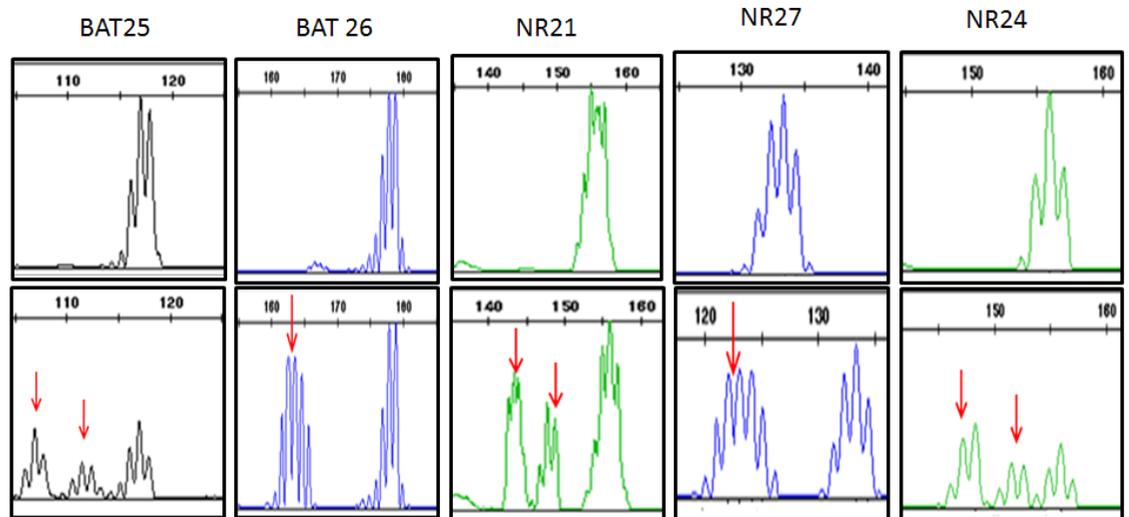
**Figura 1.** Cromatogramas obtenidos de la secuenciación directa que muestran diferentes mutaciones identificadas en los genes analizados en las muestras de cáncer colorrectal. A. Mutación en *KRAS*, codón 12 G>A. B. Mutación en *APC*, codón 1474 G>A. C. Mutación en *TP53*, codón 165 C>T. D. Polimorfismo en *APC* c.4479 G>A, p.T1493T. Las flechas muestran el sitio del cambio del nucleótido.

Por otro lado, la frecuencia de mutación del gen *APC* en la región MCR del exón 15 fue del 18,1 % (8/44). Las mutaciones identificadas fueron más comunes en mujeres (6/8) que en hombres (2/8). La mutación más común fue la c.4463 T>C, p.L1488S en el codón 1488, con el 37,5 % (cuadro 2). En este gen, también se identificaron dos polimorfismos, el rs41115 (c.4479 G>A, p.Thr1493Thr) en el 75 % (33/44) de los casos y el rs67622085 (c. 4326 T>A, p.Pro1442Pro) en un solo caso (cuadro 3, figura 1). Las mutaciones se identificaron con mayor frecuencia en el colon ascendente, con el 11,3 % (5/44), en tanto que en el colon transversal, el descendente y el recto, se identificó una sola mutación en cada uno de ellos. De las ocho mutaciones puntuales identificadas en *APC*, tres eran de transición y dos de transversión; dos mutaciones correspondían a cambio de sentido y las otras tres fueron sin sentido y generaron una proteína truncada (cuadro 2, figura 1).

En cuanto al gen *TP53*, solo se identificaron dos mutaciones en todas las muestras analizadas, correspondientes al 4,5 %; las mutaciones se localizaron en el exón 5, una en el codón 165, de tipo transición, y la otra en el codón 182, de tipo transversión, las cuales generan un codón de parada prematura (cuadro 2, figura 1). Las dos mutaciones identificadas en muestras de mujeres se localizaron en el colon ascendente y el recto. De forma similar a lo encontrado para los genes *APC* y *KRAS*, en el *TP53* se detectaron dos polimorfismos en el intrón 7, el rs12947788 (c.782+72C > T) y el rs12951053 (c.782+92T > G), con cosegregación en el 20,5 % (9/44) de las muestras analizadas (cuadro 3). Por otra parte, en ninguna de las 44 muestras se detectaron mutaciones simultáneas en los genes analizados; solo el 9 % (4/44) de ellas tenía mutaciones concomitantes en los genes *APC* y *KRAS*.

Por otra parte, la inestabilidad microsatelital se encontró en el 27,2 % (12/44) de las muestras de tumores analizadas. La MSI-H se determinó en el 11,3 % (5/44) y, la MSI-L, en el 15,9 % (7/44), en tanto que el 72,7 % (32/44) hubo estabilidad microsatelital (cuadro 1, figura 2). La inestabilidad microsatelital fue más común en hombres (8/44) que en mujeres (4/44), con el 18 y el 9 %, respectivamente, y una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,047$ ). El promedio de edad de los pacientes con inestabilidad microsatelital fue de 60,5 años. La distribución de la inestabilidad microsatelital fue de 11,3 % (5/44) en el colon ascendente, 4,5 % (2/44) en el transversal y de 11,3 % (5/44) en el descendente (cuadro 1). No se detectó inestabilidad microsatelital en las cinco muestras de recto. Se observó que el 15,9 % de las muestras con inestabilidad microsatelital positiva estaban en los estadios I y II. Por otro lado, en el análisis de mutaciones realizado en las 12 muestras de tumores con inestabilidad microsatelital positiva y en un grupo de tumores con estabilidad microsatelital, no se identificó la mutación V600E del gen *BRAF*.

El estado de metilación del promotor del gen *MLH1* se determinó en 41 de 44 muestras. La frecuencia de metilación fue del 73,1 % (30/41). De las 30 muestras con metilación del *MLH1*, el 63,3 % (19/30) procedía de mujeres con una edad promedio de 62,8 años y, el 36,6 % restante (11/30), de hombres con un promedio de edad de 63,6 años. La metilación del gen *MLH1* fue más frecuente en el colon ascendente, con 36,6 % (11/30), seguido del descendente, con 33,3 % (10/30), y el transversal y el recto, con 13,3 % (4/30) y 10 % (3/30), respectivamente. En cuanto al estado de metilación y al estadio del tumor, se observó una frecuencia del 46,6 % de metilación en los estadios I y II, en tanto que, en los estadios III y IV, fue del 40 %.



**Figura 2.** Imagen de la electroforesis capilar de una muestra de cáncer colorrectal con MSI-H. En la parte superior, se observa el perfil de los cinco marcadores STR (*Short Tandem Repeat*) del tejido normal. En la parte inferior, se observa el perfil de los marcadores STR del tejido tumoral del mismo caso que evidencia una inestabilidad microsatelital positiva alta en todos los marcadores evaluados. Las flechas indican la inestabilidad detectada con cada uno de los marcadores utilizados.

**Cuadro 4.** Descripción general de las características patológicas de las 12 muestras de cáncer colorrectal positivas para MSI y la relación con los hallazgos de mutaciones en los genes analizados y los de metilación en el gen *MLH1*

Caso	Edad	Sexo	Localización	Estadio	APC	KRAS	TP53	MSI	MLH1
1	70	F	Ascendente	IV				MSI-L	M
2	ND	F	ND*	ND				MSI-L	M
3	72	M	Ascendente	II				MSI-H	M
4	90	F	Transverso	IV				MSI-L	M
5	58	M	Descendente	I				MSI-H	M
6	81	M	Ascendente	II				MSI-H	M
7	36	F	Transverso	ND		c.35G>A		MSI-H	M
8	62	M	Ascendente	I				MSI-L	M
9	81	M	Descendente	I				MSI-L	M
10	53	M	Descendente	II				MSI-H	M
11	79	M	Descendente	II				MSI-L	M
12	ND	M	Ascendente	ND		c.35G>A		MSI-L	UM

ND: no determinado; M: con metilación; UM: sin metilación

Asimismo, el 91,6 % (11/12) de las muestras de tumores positivas para inestabilidad microsatelital presentaba metilación en el gen *MLH* y no portaba la mutación V600E del gen *BRAF*. En cuanto al estado de metilación, la inestabilidad microsatelital y el perfil de mutaciones en los genes analizados en este grupo de tumores, se observaron simultáneamente con mayor frecuencia en hombres que en mujeres en el colon ascendente, con 41,6 % (5/12) y en el estadio II, con 33,3 % (4/12). Solo dos muestras (18,2 %) tenían mutaciones en el gen *KRAS* (c.35G>A p.G12D) (cuadro 4).

Con respecto a las 32 muestras de tumores estabilidad microsatelital, estas fueron más frecuentes en mujeres, con el 71,8 % (23/32), y a una edad promedio de 61 años, y se encontraron con mayor frecuencia en el colon descendente y el recto, con el 34,3 % (11/32) y el 15,6 % (5/32), respectivamente. La estabilidad microsatelital en nuestras muestras fue más frecuente en la parte distal del colon y en los estadios II y IV, con el 56,2 % (18/32). En este grupo de tumores con estabilidad microsatelital, la metilación del gen *MLH1* fue del 59,3 % (19/32) y la frecuencia de mutaciones en los genes *APC*, *KRAS* y *TP53* fue del 59,3 % (19/32). De este último porcentaje, el

47,5 % tenía mutaciones en el *KRAS*, 42,1 % en el *APC* y 10,5 % en el *TP53*, lo que es similar a lo encontrado en el grupo de tumores con inestabilidad microsatelital, en el que el *KRAS* fue el gen más frecuentemente mutado en las muestras con estabilidad microsatelital. Solo tres muestras de este grupo de tumores tenían mutaciones en los genes *APC* y *KRAS* simultáneamente.

### Discusión

El desarrollo del cáncer colorrectal se caracteriza por la acumulación de múltiples alteraciones moleculares en diferentes vías genéticas como la inestabilidad cromosómica, la inestabilidad microsatelital y la epigenética, las cuales afectan la expresión de los genes supresores de tumores, los proto-oncogenes y los genes de reparación.

En el presente estudio, se llevó a cabo la caracterización molecular de 44 pacientes colombianos con cáncer colorrectal esporádico, sabiendo que las mutaciones en los genes *APC*, *KRAS* y *TP53* son esenciales en la transformación y progresión de adenoma a carcinoma colorrectal. Se encontró una frecuencia total de mutaciones en estos tres genes del 47,7 %.

La frecuencia de mutación del gen *APC* en nuestro estudio fue menor comparada con la reportada en otros estudios (21,22), en los que se informan frecuencias de mutaciones de hasta el 70 % al analizar las secuencias de todos los exones que contienen el gen *APC*. Nuestro estudio se restringió al análisis de mutaciones en la región MCR, que representa cerca del 10 % de toda la región codificadora de *APC* y se considera un punto clave (*hotspot*) para mutaciones en este gen (22).

La poca frecuencia de mutaciones en el *APC* en estos pacientes colombianos con cáncer colorrectal corrobora los resultados previamente reportados por nosotros en otra cohorte de pacientes (23). Sin embargo, nuestro resultado es similar a los reportados por Al-Shamsi, *et al.*, y Syed, *et al.*, quienes informan bajas frecuencias de mutaciones en el gen *APC* en poblaciones del sur de Asia y la península arábiga, con el 27,3 y el 12,8 %, respectivamente (24,25). No obstante, es necesario aumentar el número de pacientes analizados para validar nuestros resultados en este gen y evaluar todos sus exones. Las mutaciones puntuales más frecuentes en los pacientes con cáncer colorrectal fueron la c.4463 T>C p.L1488S, seguida de la c.4348C>T p.R1450\*, lo que coincide con lo reportado en otros estudios de cáncer colorrectal esporádico (22,23). Las diferencias encontradas entre nuestros resultados y los reportados por otros autores, además del tamaño muestral, permiten sugerir que las frecuencias y el patrón de mutaciones somáticas en el gen *APC* en el cáncer colorrectal difieren entre poblaciones, posiblemente por la variación geográfica de las frecuencias de las mutaciones y por factores étnicos.

Las mutaciones en el gen supresor de tumores *APC* se consideran un evento inicial crítico en la carcinogénesis del cáncer colorrectal esporádico, puesto que las mutaciones en la región MCR afectan el dominio funcional de unión de la proteína  $\beta$ -catenina, la cual se acumula en el citoplasma de las células colorrectales y, por esta vía, se promueve la formación del cáncer (8,18,22,25).

Debe tenerse en cuenta que en el *APC* ocurren otros tipos de alteraciones genéticas, como la pérdida de heterocigocidad hasta en el 30 %, deleciones cromosómicas en la región 5q21 y la hipermetilación del promotor del gen

*APC* (entre 30 y 45 %) (8,25-27). Por lo tanto, se sugiere que en las muestras tumorales analizadas en este estudio no se podría excluir la presencia de las anteriores alteraciones.

En el presente estudio, el *KRAS* fue el gen más frecuentemente mutado, con una frecuencia de mutación similar a la reportada en otros estudios y un rango entre el 13 y el 66 % en pacientes con cáncer colorrectal esporádico de diferentes poblaciones (17,19,21,22). En países como China, Estados Unidos y Francia, se reportan las frecuencias más altas de mutaciones (40 a 66 %), en tanto que, en algunas poblaciones asiáticas, se informan bajas frecuencias, de 13 a 26,5 %, similar a lo encontrado en nuestro trabajo (19,24,28,29). Asimismo, nuestros resultados concuerdan con la frecuencia de mutaciones en este gen previamente reportada en otro estudio en pacientes con cáncer colorrectal (23).

Las mutaciones puntuales identificadas en el *KRAS* fueron más comunes en mujeres que en hombres, y con mayor prevalencia en el codón 12 que en el 13, en tanto que en el codón 61 no se detectaron mutaciones. Nuestros resultados concuerdan con lo reportado en otros estudios en que se informa que hasta el 97 % de las mutaciones ocurre en los codones 12 y 13 del exón 2 (28,29). La mutación por sustitución de bases más predominante en las muestras tumorales analizadas fue la G12D, similar a lo reportado en otros estudios (17,19,22,28). Esta mutación representa más del 50 % del total de mutaciones reportadas en el *KRAS* en pacientes con cáncer colorrectal, por lo que se considera que es clave en su carcinogénesis. En este estudio, también se detectaron otras mutaciones frecuentes en el *KRAS* como la G13D y la G12S. Sin embargo, no se detectó la mutación G12V, la cual es frecuente en otras poblaciones (19,22,24,28). Las mutaciones detectadas en el *KRAS* fueron más comunes en el colon ascendente que en el colon descendente y el recto, resultados que coinciden con los reportados por otros autores (17,19,22,29).

En el presente estudio, los casos de cáncer colorrectal con el *KRAS* mutado no tenían la mutación V600E del gen *BRAF*, resultados que corroboran lo reportado en varios estudios que evidencian que las mutaciones en los genes *KRAS* y *BRAF* son mutuamente excluyentes (19,22,28,30). En general, en el cáncer colorrectal esporádico se reporta una baja frecuencia (0 a 12 %) de mutaciones en el gen *BRAF*, y nuestros resultados están dentro de este rango (4,18,19,24).

Las mutaciones puntuales en el gen *KRAS* originan una activación constitutiva de este oncogén, lo que produce una desregulación en la vía de señalización RAS/RAF/MAPK, la cual estimula la proliferación celular, un evento clave en el proceso de transformación de adenoma a carcinoma en el cáncer colorrectal (4,8,18). Asimismo, las mutaciones en el *KRAS* se asocian con un mal pronóstico de la enfermedad y, en estudios clínicos de pacientes con cáncer colorrectal metastásico y *KRAS* mutado, se informa que estos pacientes no tienen una respuesta eficaz a la terapia con anticuerpos monoclonales anti-EGFR (I-EGFR) (17,18,19,29,30). Por ello, es importante hacer la caracterización molecular del *KRAS* en los pacientes con cáncer colorrectal esporádico, pues permite la identificación de subgrupos moleculares.

En cuanto al gen *TP53*, en este estudio se encontró una baja frecuencia (4,5 %) de mutaciones, lo que difiere significativamente de lo reportado por varios autores en pacientes con cáncer colorrectal de diferentes poblaciones, con hasta el 60 % de mutaciones cuando se evalúan todos los exones del

gen (21,22,24,31,32). Este estudio se enfocó en el análisis molecular de los exones 5 al 8, en los cuales se reportan las mayores frecuencias de mutaciones en el *TP53* (*hot-spot mutation*) (18,22,33). Las dos mutaciones puntuales identificadas en el *TP53* en nuestro estudio se detectaron en los codones 165 y 182, y están entre las mutaciones con menor frecuencia reportadas en diferentes poblaciones. Las mutaciones con mayor frecuencia en el *TP53* se han reportado en los codones 175, 245, 248, 273 y 282 (22,24,33,34). Sin embargo, nuestros resultados corroboran los obtenidos por nuestro grupo en un estudio previo en pacientes con cáncer colorrectal (23), pues en los dos estudios se reportaron bajas frecuencias de mutaciones en el gen *TP53*. A partir de estos hallazgos, se sugiere que los pacientes con cáncer colorrectal esporádico evaluados presentan un perfil de mutaciones en el *TP53* de frecuencia y tipo diferentes a los informados en otras poblaciones. Las diferencias entre nuestros resultados y los de los otros estudios podrían explicarse por el tamaño de la muestra, la exposición exógena a químicos, los hábitos, el estilo de vida y la etnia.

Contrariamente a la baja frecuencia de mutaciones puntuales detectada en el *TP53* en el presente estudio, en otros estudios previos se han reportado altas frecuencias de aneuploidías del cromosoma 17 y deleciones en el locus 17p13.1, en el que se localiza el gen *TP53* (35,36). Por ello, en las muestras tumorales de cáncer colorrectal evaluadas en el presente estudio, no se podría excluir la presencia de estas alteraciones de tipo cromosómicas.

En este estudio, solo se encontraron mutaciones concomitantes en los genes *APC* y *KRAS*; no se identificaron mutaciones simultáneas en *APC*, *KRAS* y *TP53*, hallazgos que concuerdan con lo reportado para el cáncer colorrectal esporádico por otros autores (22,23,24,31). Por lo tanto, se considera que las mutaciones simultáneas en estos tres genes son un evento infrecuente en la carcinogénesis de esta neoplasia y que, a pesar del modelo genético de múltiples pasos propuesto por Fearon, *et al.*, para la misma (8), no todos los casos se ajustan a él. En este sentido, se sugiere que las mutaciones en estos genes ocurren por vías moleculares independientes durante el desarrollo del cáncer colorrectal (23,24).

Por otra parte, los análisis de mutación en los genes evaluados permitieron la identificación de varios polimorfismos; se resalta particularmente la identificación del polimorfismo c.4479G>A p.T1493T en el exón 15 del gen *APC*, con una frecuencia del 75 % en las muestras de cáncer colorrectal esporádico analizadas. Este hallazgo corrobora resultados previos reportados por primera vez por nuestro grupo en pacientes colombianos con cáncer colorrectal y de estómago (23). La asociación de este polimorfismo y el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal no está bien esclarecida. En algunos estudios, se ha encontrado dicha asociación, pero en otros no (37-39). Este polimorfismo está reportado en la base de datos del proyecto de 1.000 genomas, fase 3, en población antioqueña. Por lo tanto, se requieren más estudios en la población colombiana para establecer su asociación con el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal.

En resumen, los resultados del análisis de mutaciones en las muestras de cáncer colorrectal analizadas sugieren un perfil de mutaciones particular, caracterizado por bajas frecuencias de mutación en los genes *APC*, *KRAS*, *BRAF* y *TP53*, en comparación con las informadas en otras poblaciones. Por ello, se necesitan más estudios con muestras de mayor tamaño para validar los resultados reportados aquí, así como estudios genómicos con

técnicas de secuenciación de nueva generación para analizar el genoma tumoral completo y obtener una mejor caracterización genómica del cáncer colorrectal. Además de por el tamaño de la muestra, el perfil de mutaciones particular observado en el presente estudio podría estar influenciado por diferentes factores, como el estilo de vida, la dieta, el tabaquismo, la raza y otros aspectos genéticos.

La frecuencia de la inestabilidad microsatelital (27,2 %) en las muestras analizadas de tumores de cáncer colorrectal, concuerda con las informadas en otros estudios. El análisis de inestabilidad microsatelital permitió la identificación de subgrupos de muestras con MSI-H, MSI-L y MSS, hallazgos que coinciden con los reportados en el cáncer colorrectal esporádico (15,19,22,30,40,41). La inestabilidad microsatelital se presenta en 15 a 20 % de los casos de cáncer colorrectal esporádico, especialmente por la hipermetilación del promotor del gen *MLH1*; por otra parte, en los pacientes con cáncer colorrectal de tipo hereditario, como el síndrome de Lynch o cáncer colorrectal no polipósico hereditario, la inestabilidad microsatelital se presenta hasta en el 90 % y se origina por mutaciones germinales en los genes del sistema de reparación *Mismatch Repair System* (5,8,9,10,20,42).

En el presente estudio, la inestabilidad microsatelital se detectó con mayor frecuencia en los tumores localizados en el colon ascendente y en el descendente, mientras que no se detectó en el recto, posiblemente por el bajo número de casos. Asimismo, la inestabilidad microsatelital se detectó con mayor frecuencia en cáncer colorrectal de estadios I y II. En general, nuestros resultados concuerdan con los reportados en otros estudios y corroboran la variación de la inestabilidad microsatelital a lo largo del colon hasta el recto, así como su presencia en estadios tempranos de la carcinogénesis del cáncer colorrectal esporádico (10,15,16,30,40,42).

Por otra parte, en las 12 muestras de cáncer colorrectal positivo para inestabilidad microsatelital, no se detectó la mutación V600E del gen *BRAF*; este resultado difiere de lo reportado en otros estudios en los que se informa que esta es más frecuente en muestras de cáncer colorrectal con MSI-H (16,19,22,30,43,44). En el presente estudio, cinco de las 12 muestras con inestabilidad microsatelital tenían MSI-H, por lo que el bajo número de muestras podría explicar que no se haya identificado esta mutación. Sin embargo, nuestros resultados concuerdan con los publicados por otros autores que no encontraron esta relación en pacientes con cáncer colorrectal esporádico (45,46). En sentido contrario a la ausencia de mutaciones en el gen *BRAF*, en este estudio se encontró que el 16 % de los tumores positivos para inestabilidad microsatelital tenía mutaciones en el *KRAS*, siendo la mutación G12D la más frecuente, lo cual coincide con lo reportado por otros estudios (16,19,22,30,42,43,47). En general, nuestros hallazgos nos permiten sugerir que, en los casos de cáncer colorrectal esporádico, los positivos para inestabilidad microsatelital constituyen un subgrupo molecular que se caracteriza por presentar una baja frecuencia de mutaciones en los genes *APC*, *KRAS*, *BRAF* y *TP53*; en tanto que los pacientes con estabilidad microsatelital se caracterizan por presentar una mayor frecuencia de mutaciones en los genes analizados. Ello permite concluir que son dos subgrupos con características moleculares diferentes.

Es importante resaltar la utilidad clínica de evaluar la inestabilidad microsatelital en los pacientes con cáncer colorrectal, puesto que en diversos estudios clínicos se ha informado que los pacientes con MSI-H en estadio

El tienen un mejor pronóstico de la enfermedad y no se benefician de el tratamiento con 5-fluorouracilo, por lo que se concluye que la inestabilidad microsatelital es un biomarcador predictivo negativo para esta terapia. Además, se ha observado que los pacientes con tumores positivos para inestabilidad microsatelital tienen una mayor tasa de mutación que los tumores con estabilidad microsatelital, lo que podría aumentar el riesgo de desarrollar tumores extracolónicos. (10,16,18,19,20,40,42).

En nuestro estudio, se encontró una alta frecuencia de metilación del promotor del gen *MLH1* (73,1 %), lo que concuerda con la informada en otros estudios en cáncer colorrectal esporádico (19,22,27,48-50). Este es el primer reporte en una cohorte de pacientes colombianos con cáncer colorrectal esporádico y dicha frecuencia de metilación está entre las más altas reportadas. El *MLH1* es un gen de reparación del sistema *Mismatch Repair System*, y su inactivación por la hipermetilación en el promotor se ha descrito ampliamente en el cáncer colorrectal y en otros tumores sólidos, por lo que se considera un evento común en el desarrollo del colorrectal (5,7,8,20). En este estudio, la metilación del gen *MLH1* fue más común en los tumores localizados en el colon ascendente en estadios I y II, y menos común en el recto, lo que es similar a lo encontrado en los análisis de MSI. En general, nuestros hallazgos coinciden con los informados en la literatura en cuanto a una mayor frecuencia de metilación del *MLH1* en el colon proximal y en estadios tempranos del desarrollo del cáncer colorrectal (16,19,22,42,43,48). También, corroboran que la metilación del gen *MLH1* disminuye en el trayecto del colon proximal hacia el recto, lo que podría sugerir que se presentan diferentes vías carcinogénicas en estos sitios anatómicos del intestino (15,16,19,22,27,49).

En nuestro estudio, el 91,6 % de las muestras con inestabilidad microsatelital tenían metilación en el gen *MLH1*; este hallazgo concuerda con la relación directa entre la metilación de este gen y la inestabilidad microsatelital en el cáncer colorrectal esporádico reportada en la literatura (16,19,22,30,43,48,51). Sin embargo, nuestros resultados también mostraron una alta frecuencia de metilación del promotor del gen *MLH1* en el grupo de tumores con estabilidad microsatelital, lo que podría indicar que la metilación del *MLH1* no es un evento exclusivo que ocurre en los tumores positivos para inestabilidad microsatelital y que, en general, es un fenómeno común que se presenta en la carcinogénesis del cáncer colorrectal.

Dada la relación directa entre la inestabilidad microsatelital y la metilación del gen *MLH1* en el cáncer colorrectal y la presencia de las dos alteraciones en los estadios I y II, se sugiere que se consideren como biomarcadores de gran utilidad clínica para el diagnóstico genético en los estadios iniciales de esta neoplasia.

En el presente estudio, se observó que el grupo de tumores con estabilidad microsatelital y metilación en el gen *MLH1* se caracterizó por presentar una mayor frecuencia de mutaciones en los genes *APC*, *KRAS* y *TP53*, contrario a lo observado en el grupo de tumores con inestabilidad microsatelital. A partir de estos resultados, se concluye que la metilación del gen *MLH1* fue la alteración molecular más común detectada en las muestras analizadas de cáncer colorrectal y que esta, posiblemente, se presenta por una vía de carcinogénesis independiente a la vía de la inestabilidad microsatelital. Además, se sugiere que los pacientes evaluados con cáncer colorrectal presentan subgrupos con características moleculares diferentes.

Por último, el análisis global de los resultados del perfil de mutaciones, la inestabilidad microsatelital y el patrón de metilación del gen *MLH1* en los pacientes con cáncer colorrectal esporádico estudiados, permitió una mejor comprensión de la caracterización molecular de este tipo de cáncer y la identificación de dos subgrupos de pacientes con perfiles genéticos diferentes. El primero se caracterizó por presentar una inestabilidad microsatelital positiva, alta frecuencia de metilación del gen *MLH1* y bajas frecuencias de mutaciones en los genes *APC*, *KRAS*, *BRAF* y *TP53*. El segundo subgrupo se caracterizó por presentar estabilidad microsatelital, alta frecuencia de metilación del *MLH1* y una mayor frecuencia de mutaciones en los genes *APC*, *KRAS* y *TP53*. Estos subgrupos moleculares, identificados y reportados por primera vez en nuestra población, concuerdan con los informados por el consenso de subtipos moleculares del cáncer colorrectal. Lo anterior nos permite concluir que los pacientes con cáncer colorrectal esporádico estudiados presentaron diferentes tipos de alteraciones moleculares en la vía supresora o de inestabilidad cromosómica, microsatelital o epigenética. Los hallazgos obtenidos en nuestro estudio confirman la heterogeneidad molecular descrita en el desarrollo del cáncer colorrectal.

En conclusión, este es el primer estudio en nuestro país de evaluación simultánea de las vías de mutaciones en los genes *APC*, *KRAS*, *TP53* y *BRAF*, de la inestabilidad microsatelital y epigenética en pacientes con cáncer colorrectal, lo que permitió identificar subgrupos moleculares diferentes según las vías alteradas. Además, los pacientes con cáncer colorrectal presentaron un perfil de mutaciones que difiere del de otras poblaciones.

### Agradecimientos

Los autores agradecemos a todos los pacientes, por la participación voluntaria en este estudio, y al Hospital Fundación Hospital Universitario San Vicente Fundación y la Clínica León XIII de Medellín, en donde se recolectaron las muestras.

### Referencias

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.* 2020;70:7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21590>
2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, *et al.* Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer.* 2019;15:1941-53. <https://doi.org/10.1002/ijc.31937>
3. Siegel RL, Miller KD, Goding Sauer A, Fedewa SA, Butterly LF, Anderson JC, *et al.* Colorectal cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.* 2020;70:145-64. <https://doi.org/10.3322/caac.21601>
4. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet.* 2019;394:1467-80. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32319-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32319-0)
5. Lynch HT, Snyder CL, Shaw TG, Heinen CD, Hitchins MP. Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nat Rev Cancer.* 2015;15:181-94. <https://doi.org/10.1038/nrc3878>
6. Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Pradilla-Dieste A, Cerrada E, Rodríguez-Yoldi MJ. Colorectal carcinoma: A general overview and future perspectives in colorectal cancer. *Int J Mol Sci.* 2017;18:197. <https://doi.org/10.3390/ijms18010197>
7. Goel A, Boland CR. Epigenetics of colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2012;143:1442-60. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.09.032>
8. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* 1990;61:759-67. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90186-j](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90186-j)

9. Worthley DL, Whitehall VL, Spring KJ, Leggett BA. Colorectal carcinogenesis: Road maps to cancer. *World J Gastroenterol*. 2007;13:3784-91. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i28.3784>
10. Setaffy L, Langner C. Microsatellite instability in colorectal cancer: Clinicopathological significance. *Pol J Pathol*. 2015;66:203-18. <https://doi.org/10.5114/pjp.2015.54953>
11. Suraweera N, Duval A, Reperant M, Vaury C, Furlan D, Leroy K, *et al*. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology*. 2002;123:1804-11. <https://doi.org/10.1053/gast.2002.37070>
12. Jia Y, Guo M. Epigenetic changes in colorectal cancer. *Chin J Cancer*. 2013;32:21-30. <https://doi.org/10.5732/cjc.011.10245>
13. Li X, Yao X, Wang Y, Hu F, Wang F, Jiang L, *et al*. MLH1 promoter methylation frequency in colorectal cancer patients and related clinicopathological and molecular features. *PLoS ONE*. 2013;8:e59064. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059064>
14. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012;487:330-7. <https://doi.org/10.1038/nature11252>
15. Lee MS, Menter DG, Kopetz S. Right versus left colon cancer biology: Integrating the consensus molecular subtypes. *J Natl Compr Canc Netw*. 2017;15:411-9. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2017.0038>
16. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Sonesson C, *et al*. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015;21:1350-6. <https://doi.org/10.1038/nm.3967>
17. Peeters M, Douillard JY, van Cutsem E, Siena S, Zhang K, Williams R, *et al*. Mutant KRAS codon 12 and 13 alleles in patients with metastatic colorectal cancer: Assessment as prognostic and predictive biomarkers of response to panitumumab. *J Clin Oncol*. 2013;20:31:759-65. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.45.1492>
18. Nguyen HT, Duong HQ. The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy. *Oncol Lett*. 2018;16:9-18. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8679>
19. Murcia O, Juárez M, Rodríguez-Soler M, Hernández-Illán E, Giner-Calabuig M, Alustiza M, *et al*. Colorectal cancer molecular classification using BRAF, KRAS, microsatellite instability and CIMP status: Prognostic implications and response to chemotherapy. *PLoS ONE*. 2018;6:13:e0203051. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203051>
20. Kawakami H, Zaanani A, Sinicrope FA. Microsatellite instability testing and its role in the management of colorectal cancer. *Curr Treat Options Oncol*. 2015;16:30-44. <https://doi.org/10.1007/s11864-015-0348-2>
21. Smith G, Carey FA, Beattie J, Wilkie MJ, Lightfoot TJ, Coxhead J, *et al*. Mutations in APC, Kirsten-ras, and p53--alternative genetic pathways to colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:9433-8. <https://doi.org/10.1073/pnas.122612899>
22. Vasovcak P, Pavlikova K, Sedlacek Z, Skapa P, Kouda M, Hoch J, *et al*. Molecular genetic analysis of 103 sporadic colorectal tumours in Czech patients. *PLoS ONE*. 2011;6:e24114. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024114>
23. Palacio-Rúa KA, Isaza-Jiménez LF, Ahumada-Rodríguez E, Muñetón-Peña CM. Genetic analysis in APC, KRAS, and TP53 in patients with stomach and colon cancer. *Rev Gastroenterol Mex*. 2014;79:89. <https://doi.org/10.1016/j.rgm.2014.05.001>
24. Al-Shamsi HO, Jones J, Fahmawi Y, Dahbour I, Tabash A, Abdel-Wahab R, *et al*. Molecular spectrum of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA, TP53, and APC somatic gene mutations in Arab patients with colorectal cancer: Determination of frequency and distribution pattern. *J Gastrointest Oncol*. 2016;7:882-902. <https://doi.org/10.21037/jgo.2016.11.02>
25. Syed Sameer A, Shah ZA, Abdullah S, Chowdri NA, Siddiqi MA. Analysis of molecular aberrations of Wnt pathway gliadators in colorectal cancer in the Kashmiri population. *Hum Genomics*. 2011;5:441-52. <https://doi.org/10.1186/1479-7364-5-5-441>
26. Kapitanović S, Cacev T, Radosević S, Spaventi S, Spaventi R, Pavelić K. APC gene loss of heterozygosity, mutations, E1317Q, and I1307K germ-line variants in sporadic colon cancer in Croatia. *Exp Mol Pathol*. 2004;77:193-200. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2004.06.001>
27. Michailidi C, Theocharis S, Tsurouflis G, Pletsas V, Kouraklis G, Patsouris E, *et al*. Expression and promoter methylation status of hMLH1, MGMT, APC, and CDH1 genes in patients with colon adenocarcinoma. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2015;240:1599-605. <https://doi.org/10.1177/1535370215583800>

28. Zhang J, Zheng J, Yang Y, Lu J, Gao J, Lu T, *et al.* Molecular spectrum of *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* and *PIK3CA* mutations in Chinese colorectal cancer patients: Analysis of 1,110 cases. *Sci Rep.* 2015;5:18678. <https://doi.org/10.1038/srep18678>
29. Guo F, Gong H, Zhao H, Chen J, Zhang Y, Zhang L, *et al.* Mutation status and prognostic values of *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* and *PIK3CA* in 353 Chinese colorectal cancer patients. *Sci Rep.* 2018;8:6076. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24306-1>
30. Zlobec I, Kovac M, Erzberger P, Molinari F, Bihl MP, Ruffe A, *et al.* Combined analysis of specific *KRAS* mutation, *BRAF* and microsatellite instability identifies prognostic subgroups of sporadic and hereditary colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2010;127:2569-75. <https://doi.org/10.1002/ijc.25265>
31. Conlin A, Smith G, Carey FA, Wolf CR, Steele RJ. The prognostic significance of K-ras, p53, and APC mutations in colorectal carcinoma. *Gut.* 2005;54:1283-6. <https://doi.org/10.1136/gut.2005.066514>
32. Cai ZX, Tang XD, Gao HL, Tang C, Nandakumar V, Jones L, *et al.* APC, *FBXW7*, *KRAS*, *PIK3CA*, and *TP53* gene mutations in human colorectal cancer tumors frequently detected by next-generation DNA sequencing. *J Mol Genet Med.* 2014;8:145-56. <https://doi.org/10.4172/1747-0862.1000145>
33. Hainaut P, Pfeifer GP. Somatic *TP53* mutations in the era of genome sequencing. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016;6:a026179. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026179>
34. Naccarati A, Polakova V, Pardini B, Vodickova L, Hemminki K, Kumar R, *et al.* Mutations and polymorphisms in *TP53* gene--an overview on the role in colorectal cancer. *Mutagenesis.* 2012;27:211-8. <https://doi.org/10.1093/mutage/ger067>
35. Herrera JC, Isaza LF, Ramírez JL, Vásquez G, Muñetón CM. Detección de aneuploidías del cromosoma 17 y delección del gen *TP53* en una amplia variedad de tumores sólidos mediante hibridación *in situ* fluorescente bicolor. *Biomédica.* 2010;30:390-0. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i3.273>
36. Ramírez G, Herrera J, Muñetón CM, Márquez JR, Isaza LF. Análisis de las aneuploidías del cromosoma 17 y delección del gen *TP53* en tumores gastrointestinales por FISH-bicolor. *Rev Col Gastroenterol.* 2008;23:333-42. <https://doi.org/10.22516/issn.2500-7440>
37. Scott RJ, Crooks R, Rose L, Attia J, Thakkinstian A, Thomas L, *et al.* Germline missense changes in the *APC* gene and their relationship to disease. *Hered Cancer Clin Pract.* 2004;2:81-91. <https://doi.org/10.1186/1897-4287-2-2-81>
38. Fernández-Rozadilla C, de Castro L, Clofent J, Brea-Fernández A, Bessa X, Abulí A, *et al.* Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association. Single nucleotide polymorphisms in the Wnt and BMP pathways and colorectal cancer risk in a Spanish cohort. *PLoS ONE.* 2010;5:e12673. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012673>
39. Wachsmannova-Matelova L, Stevurkova V, Adamcikova Z, Holec V, Zajac V. Polymorphisms in the adenomatous polyposis coli gene in Slovak families suspected of FAP. *Neuro Endocrinol Lett.* 2009;30:25-8.
40. Bae JM, Kim JH, Kang GH. Molecular subtypes of colorectal cancer and their clinicopathologic features, with an emphasis on the serrated neoplasia pathway. *Arch Pathol Lab Med.* 2016;140:406-12. <https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0310-RA>
41. Montenegro Y, Ramírez-Castro JL, Isaza LF, Bedoya G, Muñetón-Peña CM. Microsatellite instability among patients with colorectal cancer. *Rev Med Chil.* 2006;134:1221-9. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872006001000002>
42. Phipps AI, Lindor NM, Jenkins MA, Baron JA, Win AK, Gallinger S, *et al.* Colon and rectal cancer survival by tumor location and microsatellite instability: The Colon Cancer Family Registry. *Dis Colon Rectum.* 2013;56:937-44. <https://doi.org/10.1097/DCR.0b013e31828f9a57>
43. Wielandt AM, Hurtado C, Moreno C M, Villarroel C, Castro M, Estay M, *et al.* Characterization of Chilean patients with sporadic colorectal cancer according to the three main carcinogenic pathways: Microsatellite instability, CpG island methylator phenotype and chromosomal instability. *Tumour Biol.* 2020;42:1010428320938492. <https://doi.org/10.1177/1010428320938492>
44. Clarke CN, Kopetz ES. *BRAF* mutant colorectal cancer as a distinct subset of colorectal cancer: Clinical characteristics, clinical behavior, and response to targeted therapies. *J Gastrointest Oncol.* 2015;6:660-7. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2078-6891.2015.077>

45. Siddique S, Tariq K, Rafiq S, Raheem A, Ahmed R, Shabbir-Moosajee M, *et al.* Sporadic early onset colorectal cancer in Pakistan: A case- control analysis of microsatellite instability. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17:2587-92. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.5.2587>
46. Agostini M, Enzo MV, Morandi L, Bedin C, Pizzini S, Mason S, *et al.* A ten markers panel provides a more accurate and complete microsatellite instability analysis in mismatch repair-deficient colorectal tumors. *Cancer Biomark.* 2010;6:49-61. <https://doi.org/10.3233/CBM-2009-0118>
47. Hu J, Yan WY, Xie L, Cheng L, Yang M, Li L, *et al.* Coexistence of MSI with KRAS mutation is associated with worse prognosis in colorectal cancer. *Medicine.* 2016;95:e5649. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000005649>
48. Li X, Yao X, Wang Y, Hu F, Wang F, Jiang L, *et al.* MLH1 promoter methylation frequency in colorectal cancer patients and related clinicopathological and molecular features. *PLoS ONE.* 2013;8:e59064. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059064>
49. de Vogel S, Weijenberg MP, Herman JG, Wouters KA, de Goeij AF, van den Brandt PA, *et al.* MGMT and MLH1 promoter methylation versus APC, KRAS and BRAF gene mutations in colorectal cancer: Indications for distinct pathways and sequence of events. *Ann Oncol.* 2009;20:1216-22. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdn782>
50. Miladi-Abdennadher I, Abdelmaksoud-Damak R, Ayadi L, Khabir A, Frikha F, Kallel L, *et al.* Aberrant methylation of *hMLH1* and *p16INK4a* in Tunisian patients with sporadic colorectal adenocarcinoma. *Biosci Rep.* 2011;31:257-64. <https://doi.org/10.1042/BSR20100023>
51. Poynter JN, Siegmund KD, Weisenberger DJ, Long TI, Thibodeau SN, Lindor N, *et al.* Colon Cancer Family Registry Investigators. Molecular characterization of MSI-H colorectal cancer by MLH1 promoter methylation, immunohistochemistry, and mismatch repair germline mutation screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:3208-15. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0512>