

Publicación científica en ciencias naturales, biológicas y médicas



AÑO	VOLÚMEN	NÚMERO	FECHA	EJEMPLARES	ISSN
20	20	38	Enero - Junio de 2022	1.000	1794-2470

INDIZADA EN PUBLINDEX - CATEGORÍA "B", y Scielo.

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA ● UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA

Registrada en LILACS de la plataforma BIREME, LATINDEX, E-revistas, Informe, EBSCO, MedicLatina, Fuente Académica, IMBIOMED, Actualidad Iberoamericana e Index Copernicus.



**NOVA Publicación Científica
en Ciencias Biomédicas**

Volúmen 20 Número 38

Objetivo

Difundir trabajos originales e inéditos que contribuyan a ampliar los conocimientos en las ciencias biomédicas

Ámbito temático

Ciencias biológicas y ciencias médicas

Público objetivo

Investigadores y especialistas en el área biomédica

Periodicidad

Publicación semestral; enero-junio; julio-diciembre

Indizada en

Publindex - B
Scielo
REDALYC

**Registrada en Bases
de Datos Académicos**

LILACS de la plataforma BIREME
E-revistas
EBSCO
Fuente Académica
Actualidad Iberoamericana

LATINDEX
Informe
Mediclatina
IMBIOMED
Index Copernicus



NOVA está licenciada con creative Commons

Registro ISSN

17942470

Dirección postal

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca-UNICOLMAYOR
Calle 28 No 5B-02 Bogotá, D.C-Colombia
Universidad Nacional Abierta y a Distancia- UNAD-
Sede Nacional. Calle 14 Sur No 14-23 Bogotá, D.C- Colombia

Dirección electrónica

<http://www.unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/>

Teléfonos

UNICOLMAYOR: (+57)1 2418800
Ext 132-133 UNAD: (+57)1 3443700

NOVA en OJS

La revista *NOVA* entra a ser parte de las publicaciones científicas de *Acceso Abierto* por medio del sistema de administración y publicación de revistas y documentos periódicos en internet *Open Journal System* -OJS-. Este sistema está diseñado para reducir el tiempo y energías dedicadas al manejo exhaustivo de las tareas que involucra la edición de una publicación seriada, permitiendo un manejo eficiente y unificado del proceso editorial. Con esto se busca acelerar el acceso en la difusión de contenidos e investigaciones científicas producidas dentro y fuera de la universidad en los temas relacionados con las ciencias biomédicas.

OJS, es un software desarrollado por Public Knowledge Project – PKP- de la Facultad de Educación de la University of British Columbia, utilizado ahora por la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, dentro de un proceso liderado, con el apoyo de la oficina de investigaciones, por la editora de la revista *NOVA* Olga Lucía Ostos y el ingeniero Camilo Andrés Angulo Muñoz -diseñador, y gestor de la plataforma y editor de textos en formato HTML y EPUB-. En el siguiente enlace podrán tener acceso a la plataforma *Open Journal System* de *NOVA* y a los documentos en PDF, HTML y EPUB allí disponibles, así mismo, encontrarán las normas para los autores, la sección de registro, donde los autores pueden inscribirse para hacer envío de sus artículos, y las bases e índices bibliográficos a las que pertenece la revista.
<http://unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/>



Editora

Olga Lucía Ostos Ortiz Bsc, Msc, MPA.

Editor Asociado

Helena Freyde Salamanca, Msc.

Asistente Editorial

Douglas Niño, Dr.
Johanna Lizeth González Devia, Msc.

Open Journal System

Carlos Alberto Rodríguez Sánchez, Msc.

Comité Editorial

1. Luis Alejandro Barrera

PhD en Bioquímica, Magister en Ciencias, Director Instituto de Errores Innatos del Metabolismo Pontificia Universidad Javeriana.

2. Julio Delgado

PhD. Director de la Escuela de Biotecnología. Universidad de San Martín de Panamá.

3. Luis Alberto Gómez Grosso

PhD. Director Laboratorio de Fisiología Molecular Instituto Nacional de Salud.

4. Genoveva Keyeux

Doctorado en Biologie Moléculaire Cellulaire Et Biochimie, Magister en Deuxième Licence En Sciences Equivalencia Dea. Docente- Investigador Universidad Nacional de Colombia.

5. Manuel Alfonso Patarroyo

Doctorado en Química con énfasis en Bioquímica. Investigador Fundación Instituto de inmunología de Colombia FIDIC.

6. Raul Poutou Piñales

Doctorado en Ciencias Biológicas, Magister en Microbiología, Profesor Asociado Pontificia Universidad Javeriana.

7. Hugo Hernando Vega Fajardo

Doctorado en Ciencias Médicas, MD, Magister en Genética Humana, Profesor Universidad Nacional de Colombia.

8. Joaquín Benavides López De Mesa

Biólogo, Magister en Microbiología. Docente Investigador Universidad de la Salle.

9. Orlando Acosta Losada

MD, Magister en Genética Humana, PhD en Virología Molecular. Profesor Asociado Universidad Nacional de Colombia.

10. Moises Wasserman

PhD en Bioquímica. Rector de la Universidad Nacional de Colombia, Director del Laboratorio de Investigaciones Básicas en Bioquímica LIBIQ Universidad Nacional de Colombia.

11. Hugo Mendieta Zerón

Doctor en Endocrinología. Universidad Autónoma del Estado de México. México.

12. Magnolia Matilde Correa Muñoz

Doctor en Ciencias (Biotecnología). Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Baja California, México.

13. Andrés Felipe López Gerena

Biólogo, Master en Monitorización de Ensayos Clínicos. Colegio Oficial de Médicos de Barcelona. Barcelona, España

14. María Jesus Tuñon González

Bióloga y doctora del departamento de Ciencias Biológicas e Instituto de Biomedicina, Universidad de León. España

15. Javier del Angel Caraza

Doctor en Medicina y Cirugía Animal. Universidad Autónoma del Estado de México

16. Oscar Orlando Bernal Parra

Doctor en Ciencias. Universidad de California, Riverside

Contenido / Content

Artículo producto de la investigación / Article product of the research

Detección de anticuerpos tipo IgG contra Borrelia Burgdorferi, y factores asociados a la enfermedad de Lyme en población canina, de los municipios Honda-Tolima, La Mesa y Chia-Cundinamarca

11

Detection of IgG-type antibodies against Borrelia Burgdorferi, and factors associated with Lyme disease in the canine population, of the municipalities Honda-Tolima, La Mesa and Chia-Cundinamarca

Lucia Constanza Corrales, E. Stiven Quijano Duarte, Evelyn Y. Ramirez Hernandez

Excusiones de glucosa en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 tratados con vildagliptina más metformina Galvus Met®, versus glimepirida más metformina –GLOBE–: Ensayo clínico aleatorizado

37

Glucose excursions in patients with type 2 diabetes mellitus treated with vildagliptin plus metformin Galvus Met®, versus glimepiride plus metformin -GLOBE-: Randomized clinical trial.

Julián Coronel Arroyo

Análisis de estudios sobre psicofármacos en una IPS del departamento de Córdoba 2012-2020

53

Analysis of studies of psychopharmacology in a IPS of the department of Córdoba 2012-2020

Mónica Isabel Hanna Lavalle, Ernesto Fuentes Fabra, Justiniano Arrazola

Artículo de revisión / Review article

Fisiopatología y alteraciones clínicas de la diabetes mellitus tipo 2: revisión de literatura

65

Physiopathology and clinical alterations of diabetes mellitus 2: literature review

Cristhian Ignacio Jerez Fernández, Yerko Alexis Medina Pereira, Amanda Sofía Ortiz Chang, Simón Ignacio González Olmedo, Melany Candy Aguirre Gaete

Artículo producto de la investigación / Article product of the research

Determinantes sociales de la falta de adherencia al tratamiento de la tuberculosis en migrantes venezolanos en Colombia, 2018-2019

105

Social determinants of non adherence to tuberculosis treatment in Venezuelan migrant population in Colombia, 2018-2019

Paola Andrea Ceballos Betancur, Jaqueline Acero Medina, Alejandra Ramirez Martínez, Fabio Alberto Escobar Díaz

Artículo producto de la investigación / Article product of the research**Análisis temporal del covid-19 en Colombia:
indicadores asociados y modelización****121**

Temporal analysis of covid-19 in Colombia:
associated indicators and modeling

Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía

**Efecto del factor de crecimiento fibroblástico dos
(FGF-2), en la reducción de la senescencia en células madre
mesenquimales aisladas de gelatina de Wharton****141**

Fibroblastic growth factor two (FGF-2), in reducing the senescent effect on mesenchymal stem cell isolated from Wharton's jelly

Andrea Catalina Rubio Vargas, Jessica Paola Alcázar, Laura Alejandra Lozano Trujillo,
Diana Katherine Garzón Perdomo, Angélica Rocío Bonilla Porras, Olivia Teresa González Gay, Liliana Francis Turner

Artículo de revisión / Review article**Silenciamiento génico en insectos plaga que afectan la industria agrícola
usando ARN de interferencia****159**

Gene silencing in pest insects that affect the agricultural industry using interference RNA

Lizeth S. Ossa Toro, Dina A. Padilla Jarava, Ligia C. Sánchez Leal, Luz Stella Fuentes Quintero

Artículo producto de la investigación / Article product of the research**Seropositividad de Brucella abortus en ganado bovino de
Aguazul - Casanare****177**

Seropositivity of Brucella abortus in cattle from Aguazul - Casanare

Moscoso Gama Johanna Marcela, Álvarez Carreño Karen Andrea,
Ballesteros Muñoz Diana Ximena, Cortes Avellaneda Sandra Liliana

Políticas del editorial / Editorial policies**195**

Detección de anticuerpos tipo IgG contra *Borrelia Burgdorferi*, y factores asociados a la enfermedad de Lyme en población canina, de los municipios Honda-Tolima, La Mesa y Chia-Cundinamarca

Detection of IgG-type antibodies against *Borrelia Burgdorferi*, and factors associated with Lyme disease in the canine population, of the municipalities Honda-Tolima, La Mesa and Chia-Cundinamarca

Lucia Constanza Corrales¹, E. Stiven Quijano Duarte², Evelyn Y. Ramirez Hernandez³

Resumen

Borrelia burgdorferi, es la espiroqueta responsable de ocasionar la enfermedad de Lyme en el hombre y diferentes animales. **Objetivo.** Detectar anticuerpos tipo IgG específicos contra *Borrelia burgdorferi*, en caninos mediante la técnica de inmunofluorescencia y su correlación con otros factores asociados a la enfermedad de Lyme. **Métodos.** Se tomó sangre para detección de IgG contra *Borrelia burgdorferi* sl; frotis de sangre periférica de los caninos y hemolinfa de las garrapatas para búsqueda de espiroquetas con la coloración de Wright y finalmente clasificación de las garrapatas mediante claves morfométricas. **Resultados.** En la prueba serológica en promedio el 69.0 % de los caninos muestreados dieron positivos en las diferentes titulaciones. Se visualizaron estructuras bacterianas de forma espiral tanto en la sangre periférica de los caninos, como en la hemolinfa de las garrapatas, el vector encontrado se clasificó como *Rhipicephalus sanguineus*, hasta ahora no reportado en la literatura científica como portador de *Borrelia*, ni asociado a la enfermedad.

Palabras claves: *Borrelia burgdorferi*, enfermedad de Lyme, espiroqueta, eritema, perros, inmunofluorescencia.

1. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico.
Número de certificación CvLac: 000048264120121119123
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2398-348X>

2. Armada Nacional de Colombia. Bacteriólogo y Laboratorista Clínico.
Número de certificación CvLac: 00017437332019922915
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-2636>

3. Centro Nacional de la Salud. Bacterióloga y Laboratorista Clínico.
Número de certificación CvLac: 000174632120191081811
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2138-8062>

Correo electrónico de correspondencia: lcorrales@unicolmayor.edu.co

► <https://doi.org/10.22490/24629448.6180>

Recibido: 13/04/2022
Aceptado: 04/07/2022

Abstract

Borrelia burgdorferi, is the spirochete responsible for causing Lyme disease in man and different animals. **Objective.** Detect specific IgG type antibodies against *Borrelia burgdorferi*, in canines using the immunofluorescence technique and its correlation with other factors associated with Lyme disease. **Methods.** Blood was taken for IgG detection against *Borrelia burgdorferi* sl; Peripheral blood smear of the canines and hemolymph of the ticks to search for spirochetes with Wright staining and finally classification of the ticks using morphometric keys. **Results.** In the serological test, on average 69.0% of the canines sampled gave positive results in the different titrations. Bacterial structures were spirally visualized both in the peripheral blood of the canines and in the hemolymph of the ticks. The vector found was classified as *Rhipicephalus sanguineus*, until now not reported in the scientific literature as a carrier of *Borrelia*, nor associated with the disease.

Keywords: *Borrelia burgdorferi*, Lyme disease, spirochete, erythema, dogs, immunofluorescence.

Introducción

Las espiroquetas que pertenecen al género *Borrelia*, son un grupo de microorganismos cosmopolitas, que incluyen especies transmitidas por artrópodos hematófagos patógenas para ciertos animales vertebrados, incluyendo al humano. Las especies de *Borrelia* que presentan mayor interés clínico son: “*Borrelia burgdorferi*”, transmitida por garrapatas duras (Ixodidae) y principal agente etiológico de la enfermedad de Lyme cuyo predominio está en Norteamérica y Europa. Lleva el apellido de quien la descubrió el señor Willi Burgdorfer en el año de 1982, y *Borrelia recurrentis*, responsable de la fiebre recurrente, transmitida por piojos (*Pediculus humanus*) y algunas garrapatas

blandas (*Argasidae*)” (1). “Las espiroquetas se clasifican dentro de tres familias filogenéticas: Spirochaetaceae, Braquspiraceae y Lepstospiracea” (2), siguiendo en su taxonomía del orden Spirochaetales y se caracterizan por ser bacterias Gram negativas que presentan una morfología helicoidal. El género *Borrelia*, posee una longitud que oscila entre 3 a 20 um y 0.2 um a 0.5 um de ancho, además poseen de 7 a 30 flagelos periplásmicos a partir del extremo celular lo que les confiere una movilidad en forma de ondas. “Necesitan ácidos grasos de cadena larga para su desarrollo y una temperatura de 28 a 30°C. No producen catalasa, la principal fuente de carbono y energía para su desarrollo son los hidratos de carbono, a partir de los cuales obtienen ácido láctico.

Contiene ornitina como componente aminoácido presente en el peptidoglucano y no posee túbulos citoplasmáticos” (3). Entre los factores de patogenicidad y virulencia además de los plásmidos, posee las proteínas de superficie Osp A y Osp B, y puede sobrevivir sin hierro el cual sustituye por manganeso.

Si bien las enfermedades transmitidas por artrópodos han tomado un importante lugar en los estudios de salud pública y medicina interna, no es el caso de la borreliosis, al igual que otras se considera una enfermedad nueva. En América, algunos estudios han permitido determinar la seroprevalencia asociada al microorganismo en perros y humanos, y la presencia de los vectores ha sido un factor de asociación positiva en la mayoría de casos (4).

La importancia de la borreliosis de Lyme radica en que es una enfermedad de tipo zoonótico, hoy en día la mayor parte de la comunidad tiene mascotas y estas son susceptibles de infectarse por la picadura de garrapatas. La enfermedad puede traerle muchas consecuencias al animal. Clínicamente la mayoría de caninos pueden no presentar signos evidentes en fases iniciales a pesar de tener la infección, lo que dificulta su abordaje clínico y diagnóstico. En los animales sintomáticos puede haber fases con distintos grados de cronicidad, que generan síntomas como “artritis, cojera, eritema migratorio, fatiga, anorexia, malestar

general, dolor muscular, rigidez en el cuello, fiebre, bloqueo cardíaco, insuficiencia renal y cambios neurológicos como convulsiones, agresión, y en algunos casos la muerte” (5).

Los caninos como la mayoría de los mamíferos cuentan con tres sistemas de defensa: las barreras físicas, la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa.

La primera barrera de defensa física es la piel, muy eficiente en la protección contra los agentes patógenos. Se requiere una herida, trauma, intervención quirúrgica o picadura de un vector tipo artrópodo como en el caso de la enfermedad de Lyme para que *Borrelia burgdorferi* penetre. La segunda barrera física son las mucosas, en el caso de la infección por esta bacteria, cuando los caninos presentan una ectoparasitosis severa, por reflejo tienden a desprenderlas con la boca en zonas como las patas, el lomo, la grupa y el muslo, debido a ello los caninos pueden ingerirlas llegando hasta su sistema digestivo. Diferentes estudios han llegado a la conclusión que la enfermedad de Lyme también se puede presentar de esta manera en caninos inmunocomprometidos.

Se ha evidenciado que las células del “sistema inmune innato poseen unos receptores denominados “receptores de reconocimiento de patrones” (PRRs), los cuales reconocen estructuras concretas en los agentes patógenos, denominados “patrones moleculares asociados a patógenos” (PAMPs).

La estrategia de reconocimiento microbiano se basa en la detección de patrones moleculares conservados que son productos esenciales de la fisiología microbiana” (6), los cuales corresponden a lipopolisacáridos, peptidoglucanos, ácidos lipoteicos, DNA, RNA y glucanos que se expresan en la membrana de los microorganismos patógenos y que son esenciales para su supervivencia.

Los PRRs reconocen a los PAMPs por medio de algunas moléculas como los Receptores de tipo Toll (TLR) “que se encuentran en la membrana de células fagocíticas, presentadoras de antígenos, asesinas naturales, epiteliales intestinales y células linfoides, cuya capacidad es reconocer un numero discreto de ligandos presentes en bacterias, hongos, virus y protozoos” (7). Otro “receptor importante en la inmunología innata son los receptores tipo NOD (nucleotide-binding oligomerization) que se caracterizan por ser intracelulares que detectan productos anti-microbianos” (8), así el cuerpo de un animal puede enfocar sus mecanismos de defensa innatos en los sitios de invasión microbiana en el complejo conjunto de reacciones que llamamos inflamación que en el caso de la infección por parte de *Borrelia burgdorferi*, puede generar dicha reacción en forma localizada o en varios sitios del cuerpo.

Inmediatamente se inicia el proceso de fagocitosis, por el que se destruyen y eliminan los agentes extraños. Simultáneamente, las

células fagocíticas producen señales químicas (citoquinas, tales como el factor de necrosis tumoral) y “otros mediadores, que también inducen inflamación. La inflamación a su vez, atrae y concentra nuevas células y moléculas en los lugares de invasión, intentando erradicar la infección y reparando los tejidos dañados” (9).

La respuesta inmune adaptativa se desarrolla mediante dos mecanismos fundamentales: respuesta inmune humoral, donde los linfocitos B juegan un papel preponderante; y respuesta inmune celular, donde los linfocitos T son las células fundamentales. “La inmunidad frente a los invasores extracelulares depende sobre todo de los linfocitos B, que producen los anticuerpos que favorecen la destrucción microbiana” (10).

En cuanto a animales domésticos, los caninos resultan ser un importante hospedador para algunas de estas especies de espiroquetas, siendo de especial relevancia *Borrelia burgdorferi*, transmitida de igual forma por artrópodos ixódidos, convirtiéndose así en una importante zoonosis transmitida por garrapatas (11).

Borrelia burgdorferi posee un ciclo de vida bastante complicado, puesto que viaja entre vectores artrópodos cuya taxonomía se caracteriza por ser de la clase Arachnida, subclase Acari, orden Parasitoformes, suborden Ixodida, super familia Ixodoidea, familia Ixodidae y género *Ixodes* cuyas especies más

representativas son: *Ixodes scapularis*, *Ixodes pacificus*, *Ixodes dentatus* e *Ixodes ricinus* estas son las principales especies de los vectores en Norteamérica, Europa y Asia; una de las particularidades más importantes que poseen estos vectores es que se desarrollan en tres periodos de maduración: larva, ninfa, y adultos (macho y hembra) además viaja en hospederos vertebrados desde pequeños roedores silvestres hasta grandes mamíferos como ciervos.

Como lo menciona Villamil en su tesis doctoral titulada “Epidemiología de “*Borrelia burgdorferi* sL” (enfermedad de Lyme) en un ecosistema de pinar de montaña suprameditáneo” (12).

La hembra adulta pone los huevos en la vegetación, tras lo cual muere. Cuando las condiciones atmosféricas son buenas, nacen las larvas que miden menos de 1 mm y poseen tres pares de patas. Las larvas se alimentan durante 3-4 días generalmente en pequeños animales silvestres, y posteriormente caen al suelo donde mudan a la fase de ninfa. Estas son un poco más grandes (2mm), con cuatro pares de patas, sin abertura genital y por lo general se alimentan durante varios días de animales silvestres, domésticos y el hombre. Cuando están repletas caen al suelo y mudan a la fase adulto (machos o hembras), que vuelve a picar a un hospedador ya sean grandes animales o incluso el hombre. Las garrapatas hembras, tras permanecer 5 a 7 días alimentándose y ser fecundadas por

los machos, caen de nuevo a la vegetación y comienzan la puesta de huevos.

Esto indica que la espiroqueta debe ser capaz de “adherirse y sobrevivir en el intestino del artrópodo, penetrar el epitelio de dicho órgano y atravesar la hemolinfa hasta llegar a las glándulas salivales y de esta manera transportarse al flujo sanguíneo del hospedero” (13), evitando la reacción inmune y diseminándose en los órganos diana; lo cual logra evadiendo la respuesta inmunitaria tanto innata como adaptativa gracias a varias proteínas de membrana externa y proteínas adhesivas que posee.

La variedad de reservorios de *Borrelia burgdorferi* es amplia y esto se debe a la gran distribución que tiene, en los mamíferos salvajes, especialmente “roedores pequeños como el *Apodemus leucopus* o más conocido como ratón de patas blancas y el venado *Odocoileus virginianus* también conocido como venado de cola blanca” (14), son los reservorios más competentes en Estados Unidos, y el ratón *Apodemus flavicollis*, en el continente europeo y asiático.

En todo el mundo se pueden presentar casos accidentales donde el vector se infecta de alguno de estos reservorios, y transmite el microorganismo a otras especies como caninos y humanos lo cual puede ocurrir por el contacto con la naturaleza (áreas forestales) y animales silvestres.

La borreliosis o enfermedad de Lyme es de “distribución mundial, aunque se describe prácticamente solo en el hemisferio norte y constituye la enfermedad transmitida por vectores más común en Estados Unidos de

América, y regiones Euroasiáticas” (15). La distribución de las especies más representativas de *Borrelia sensu stricto* se explica en la Tabla 1.

Tabla 1. Diversidad de especies de Borrelia junto con su localización y vector.

<i>Borrelia</i>	Localización	Vector
<i>Borrelia burgdorferi sensu stricto</i>	Estados Unidos América latina Europa	<i>Ixodes</i> sp
<i>Borrelia garinii</i>	Europa	<i>Ixodes ricinus</i>
	Asia	<i>Ixodes persulcatus</i>
<i>Borrelia afzelii</i>	Europa	<i>Ixodes ricinus</i>
	Asia	<i>Ixodes persulcatus</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Oeste de los Estados Unidos	<i>Ixodes pacificus</i>
	Norte y centro de los Estados Unidos	<i>Ixodes scapularis</i>
	Europa	<i>Ixodes ricinus</i>
	América Latina	<i>Ixodes</i> sp
<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	América Latina	<i>Ixodes</i> sp

Fuente: Elaboración propia.

En América Latina, países como Brasil y México han realizado estudios moleculares, serológicos y clínicos, un poco más profundos sobre Borreliosis tanto en caninos como en humanos, que indican la existencia de la bacteria en estos países. La detección de *Borrelia burgdorferi* “no posee un método

completamente estandarizado y los investigadores usan distintos reactivos, protocolos y sus propios criterios de validación” (16). A nivel mundial se usan pruebas para la detección del agente (diagnóstico directo) o la respuesta que se ha producido en el hospedero (diagnóstico indirecto).

Materiales y métodos

Muestra

58 caninos de los municipios de Honda-Tolima, la Mesa y Chía Cundinamarca, lugares geográficos con la temperatura y humedad que permite el ciclo de vida de la garrapata. Los animales seleccionados presentaban una alta ectoparasitosis, y se les tomó sangre en tubo seco para obtención de suero y en tubo con anticoagulante para los FSP, de igual forma se recolectaron las garrapatas.

Identificación anticuerpos IgG por la técnica IFI

Mediante inmunoensayo de fluorescencia indirecta se realizó la detección y semi-cuantificación de anticuerpos de clase IgG contra *Borrelia burgdorferi* sl, con el kit anticuerpos IgG contra *Borrelia burgdorferi*, IFI- FULLER laboratorios. El principio de la Inmunofluorescencia indirecta se basa en demostrar si en el suero del paciente existen anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi*, los cuales se unirán al antígeno que está adherido al portaobjeto, complejo que es detectado mediante la adición de anti-inmunglobulina canina conjugada con fluoroforo. Finalmente, la reacción es observada mediante microscopio de fluorescencia.

Las láminas IFA en este kit, contienen espiroquetas de *Borrelia burgdorferi* sensu lato dentro de una matriz de homogenizado de

saco de yema de huevo lavado con acetona. Los sueros de los caninos y el control se llevan a dilución de tamizado en solución salina tamponada con fosfato (PBS), 1/256, 1/512, 1/1024 y se incuban para permitir la reacción del anticuerpo con las espiroquetas, a continuación, se lavan y se añade la IgG anti-canina marcada con fluoroforo (conjuguado) para reaccionar con los complejos antígeno-anticuerpo y marcarlos.

La reacción positiva se ve como espiroquetas fluorescentes de color verde manzana contra un fondo rojo de la matriz del saco vitelino.

Frotis de sangre periférica de los caninos

Procedimiento que generalmente se utiliza para la observación microscópica de células sanguíneas y microorganismos hemáticos. El método que se utilizó fue el del portaobjetos, también conocido como método de cuña.

Identificación Taxonómica de Ectoparásitos

La clasificación de la garrapata se realizó mediante el análisis de las características morfométricas y su comparación con las guías ilustradas.

Observación de espiroquetas en la hemolinfa de la garrapata

Mediante punción con el estilete o aguja fina de disección en el artrópodo hembra pletorizada, se obtuvo la hemolinfa con el fin de realizar un frotis periférico para realizar la observación de espiroquetas. El procedimiento consistió en inmovilizar el artrópodo con unas pinzas, realizar una punción con el estilete en la cutícula suave debajo del escudo dorsal en la parte distal, recolectar la hemolinfa, realizar el frotis, colorear con Wright y observar al microscopio.

Resultados

Descripción de la población de caninos

Los caninos muestrados cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: presentar signos clínicos como decaimiento o fiebre en los últimos dos meses, exposición a artrópodos (garrapatas) o ectoparasitos, que vivieran o hubieran estado en lugares donde la temperatura superará los 24 °C, que el esquema de vacunación estuviera incompleto y que preferiblemente presentara eritema migrans. Las fotografías 1, 2 y 3, muestran los caninos con ectoparasitos.

Figura 1. Parte trasera de la pierna de un canino con ectoparasitosis.



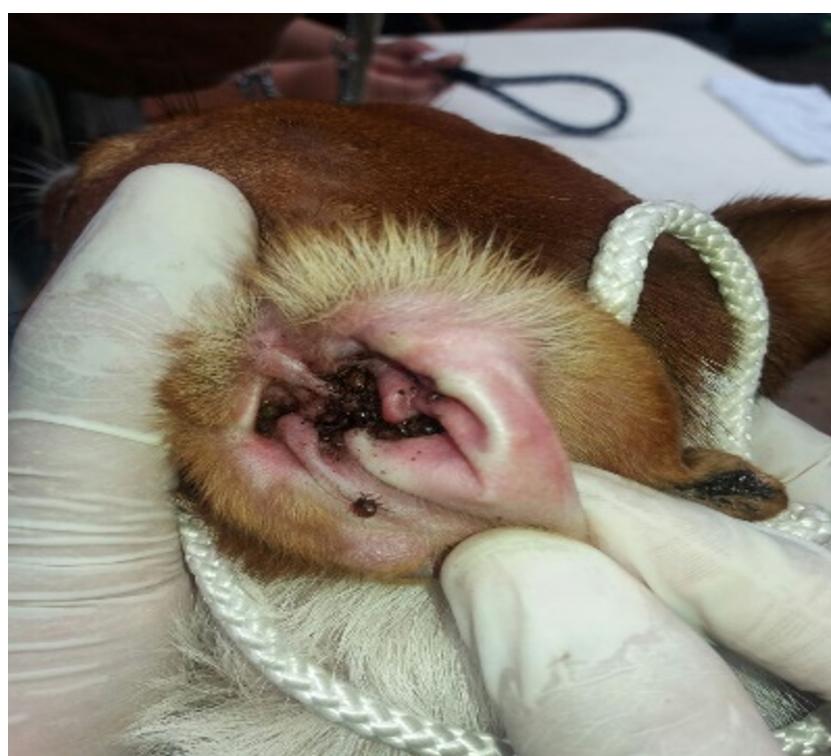
Fuente: Autores.

Figura 2. Ectoparasitosis de un canino entre los dedos de la garra.



Fuente: Autores.

Figura 3. Canal auditivo de un canino obstruido por garrapatas.



Fuente: Autores.

Resultado de las pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Honda – Tolima

Inmunofluorescencia Indirecta IFI Honda-Tolima (n = 12)

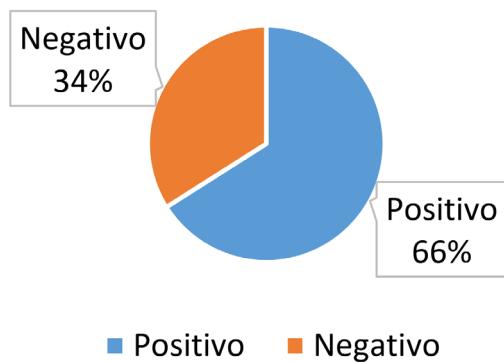


Figura 4. Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en Honda- Tolima.

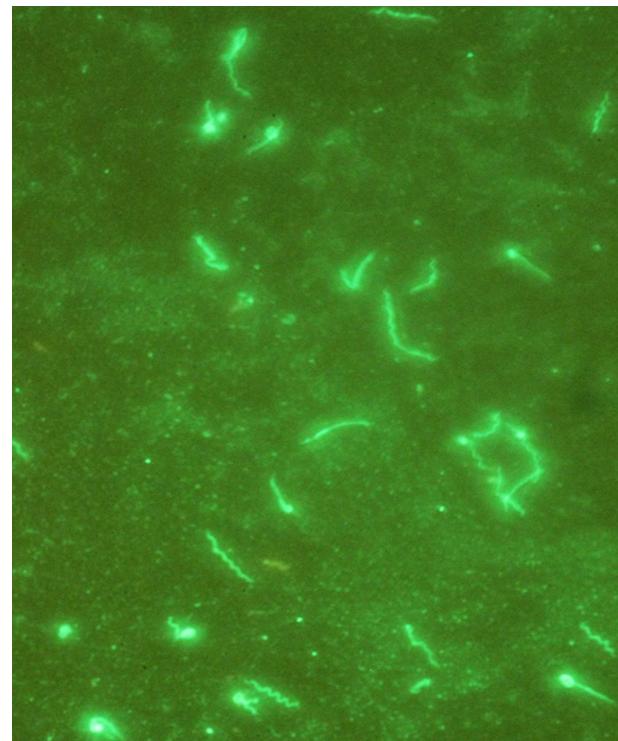


Figura 5. Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de Honda-Tolima /Quijano, Ramírez.

Titulación de anticuerpos en caninos de Honda- Tolima

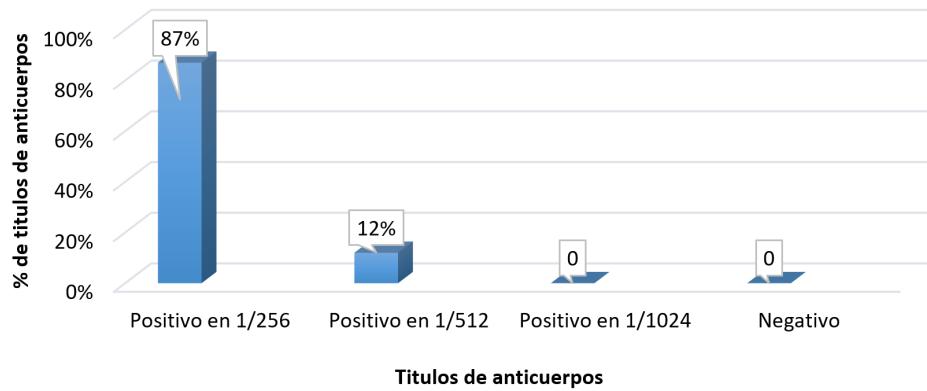


Figura 6. Resultados de la Titulación IFI en Honda- Tolima.

La Mesa- Cundinamarca

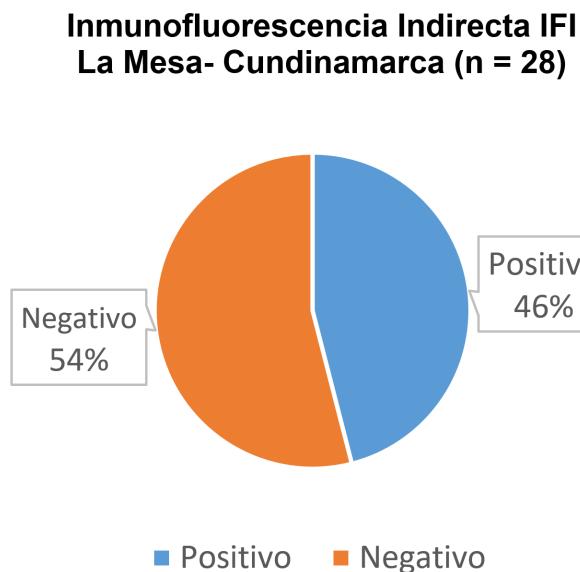


Figura 7. Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en La Mesa- Cundinamarca.

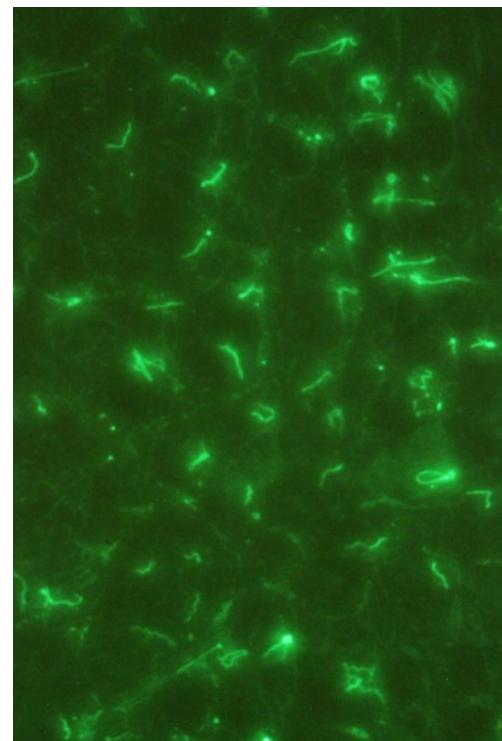


Figura 8. Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de la Mesa Cundinamarca /Quijano, Ramírez.

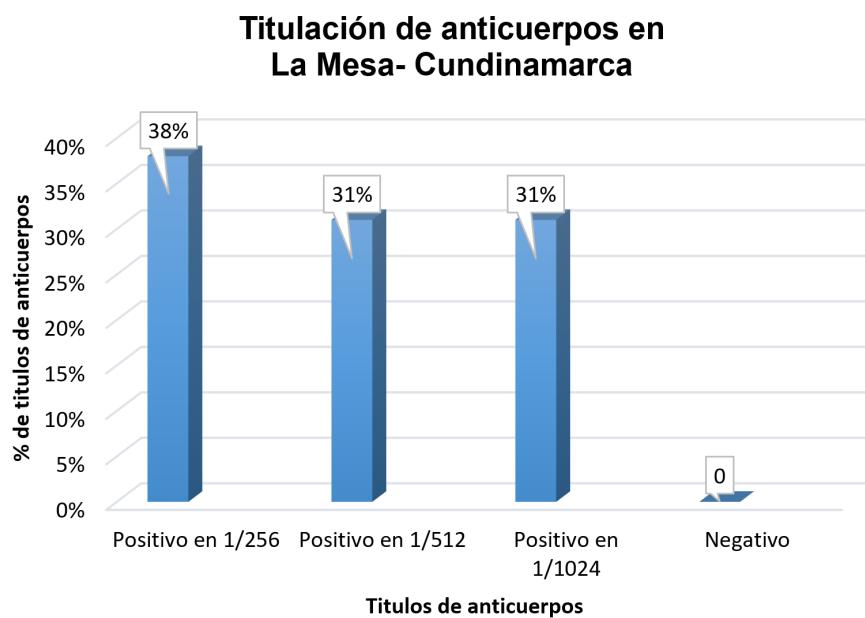


Figura 9. Resultados de la Titulación IFI en la Mesa- Cundinamarca.

Chía – Cundinamarca

Inmunofluorescencia Indirecta IFI Chía-Cundinamarca (n = 18)

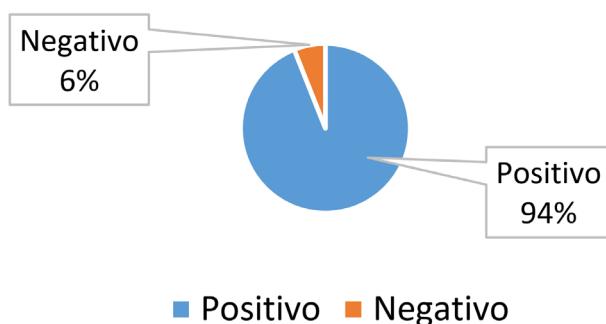


Figura 10. Resultado de Positividad de Inmunofluorescencia indirecta en Chía-Cundinamarca.

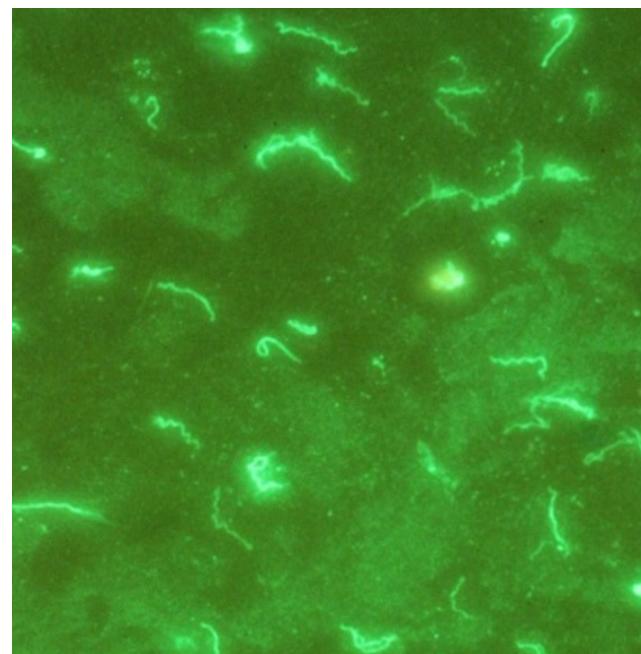


Figura 11. Resultado Positivo de IFI contra *Borrelia burgdorferi* en canino de Chía-Cundinamarca /Quijano, Ramírez.

Titulación de anticuerpos en Chía-Cundinamarca

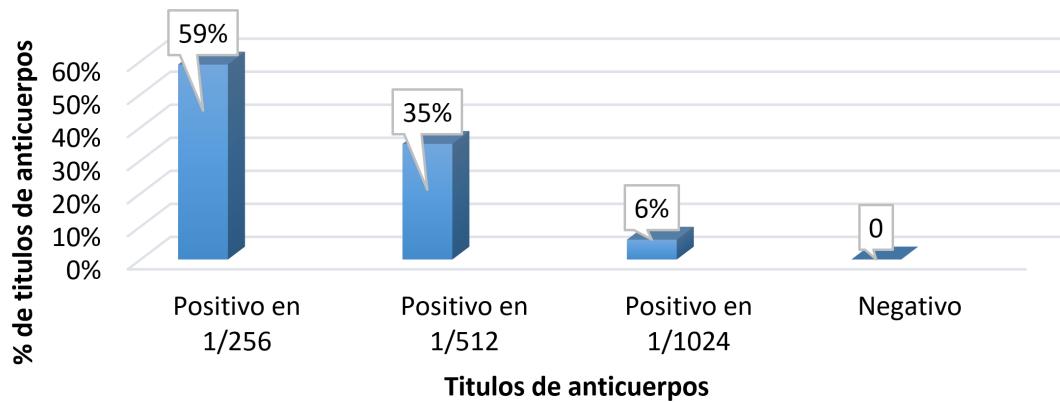


Figura 12. Resultado de Titulación IFI en Chía-Cundinamarca.

En la figura 13, se muestra que 40 caninos corresponden al 69% del total de la población muestreada ($n=58$) dieron positivas para la prueba de IFI contra *Borrelia*

burgdorferi, confirmando que los caninos presentan anticuerpos IgG, frente a la espiroqueta.

Resultados de la Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta IFI

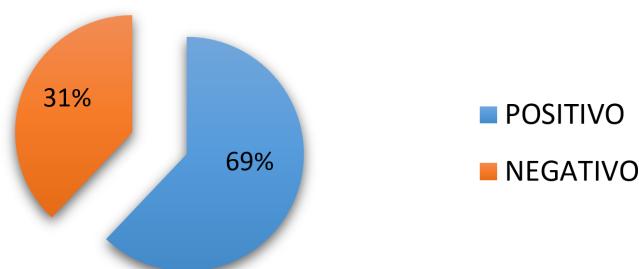


Figura 13. Resultado de IFI en población total de los tres municipios muestreados en porcentaje.

En la siguiente gráfica se observa que en la prueba inmunoserológica, el mayor número de muestras correspondieron a la dilución 1/256.

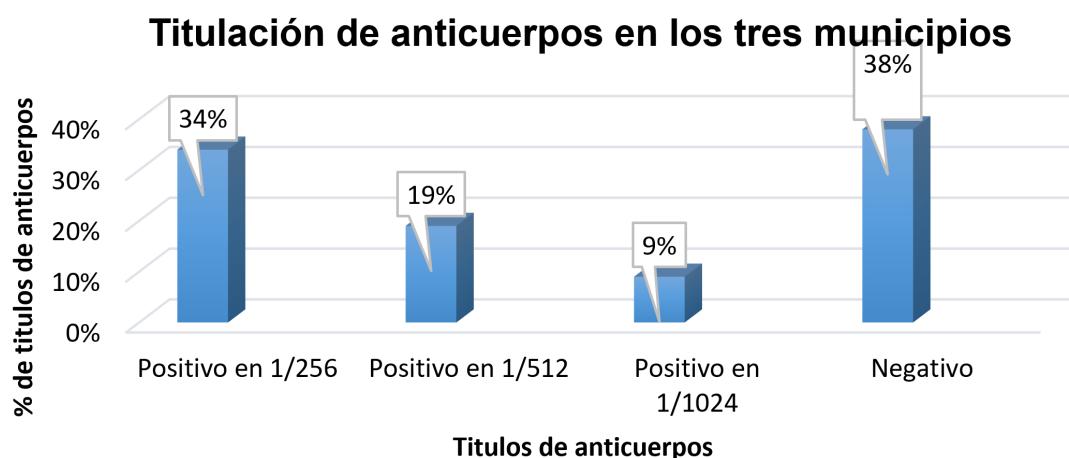


Figura 14. Resultado de IFI de las diluciones realizadas.

*Resultado de la búsqueda de
espiroquetas en los FSP de los caninos*



Figura 15. Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en Honda-Tolima/Quijano, Ramírez.



Figura 16. Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en la Mesa- Cundinamarca/Quijano, Ramírez.

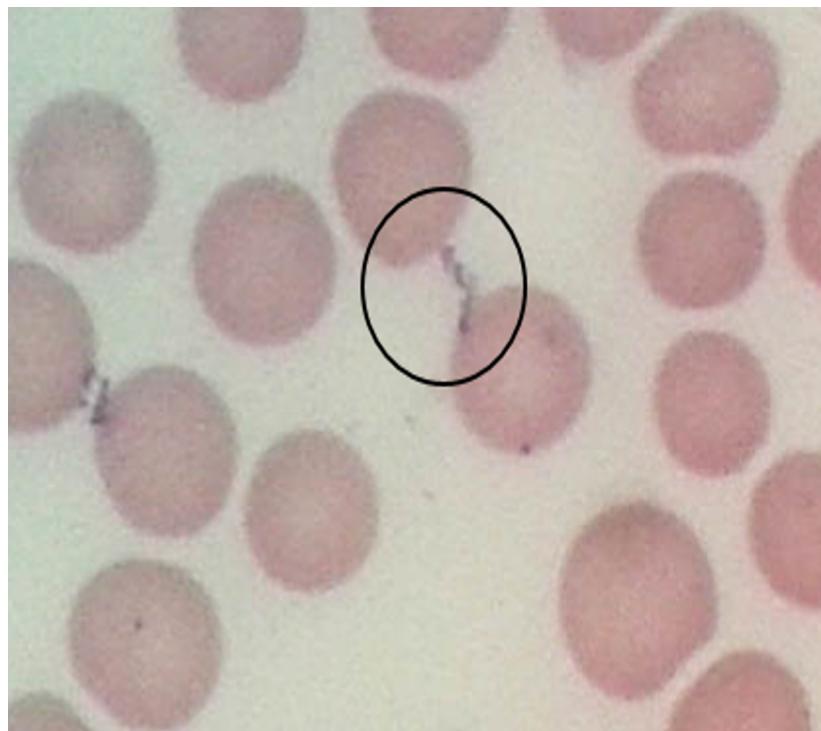


Figura 17. Espiroqueta en extendido de sangre periférico de canino muestreado en Chía-Cundinamarca/Quijano, Ramírez.

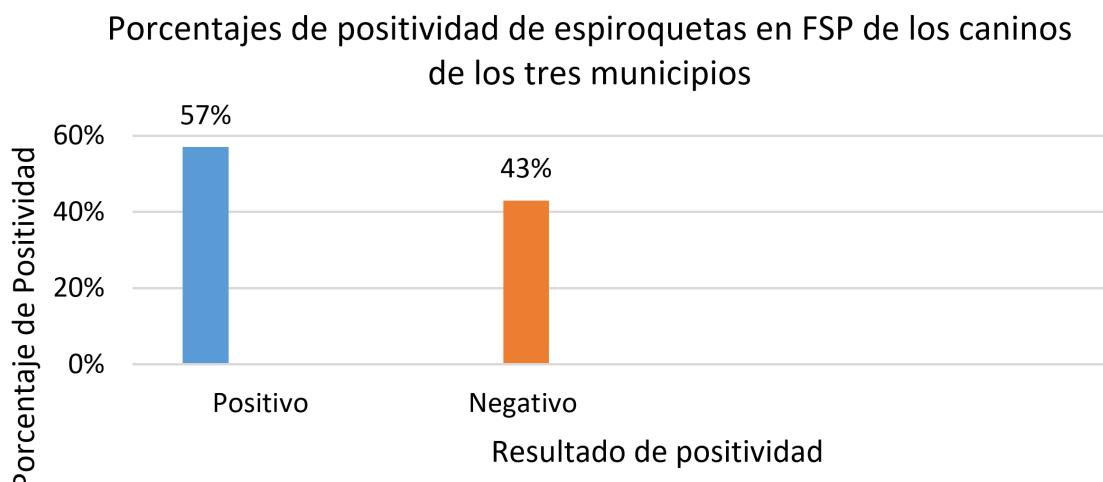


Figura 18. Porcentajes de positividad de FSP de los tres municipios.

Resultado de la clasificación entomológica de las garrapatas

Para la clasificación de los artrópodos se utilizaron diferentes claves de identificación ilustradas del libro “Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species” las cuales permitieron la identificación de las garrapatas. Los resultados fueron los siguientes:

Reino: *Animalia*
 Filo: *Arthropoda*
 Clase: *Arachnida*
 Subclase: *Acari*
 Superorden: *Parasitiformes*
 Orden: *Ixodida*
 Familia: *Ixodidae*
 Género: *Rhipicephalus*
 Especie: *R. sanguineus*



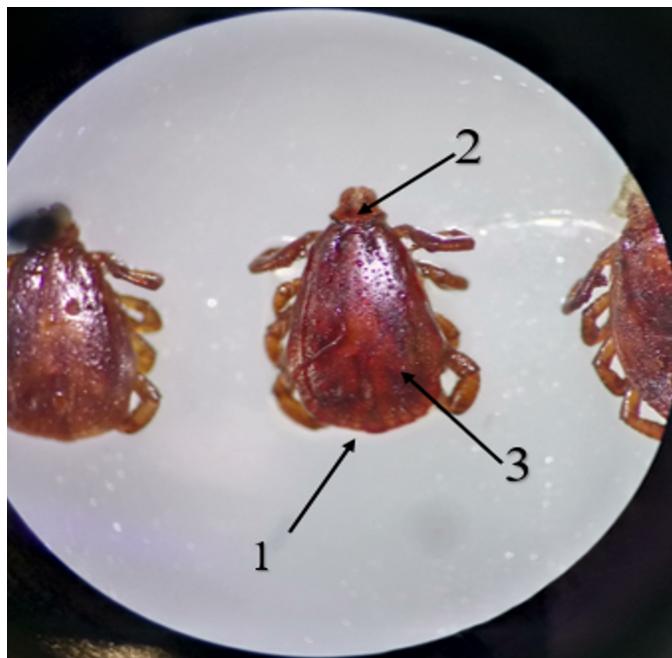
Nota. 1: Festones, 2: Capítulo hexagonal,
 3: Escudo dorsal incompleto.

Figura 19. Garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Hembra) /Quijano, Ramirez.



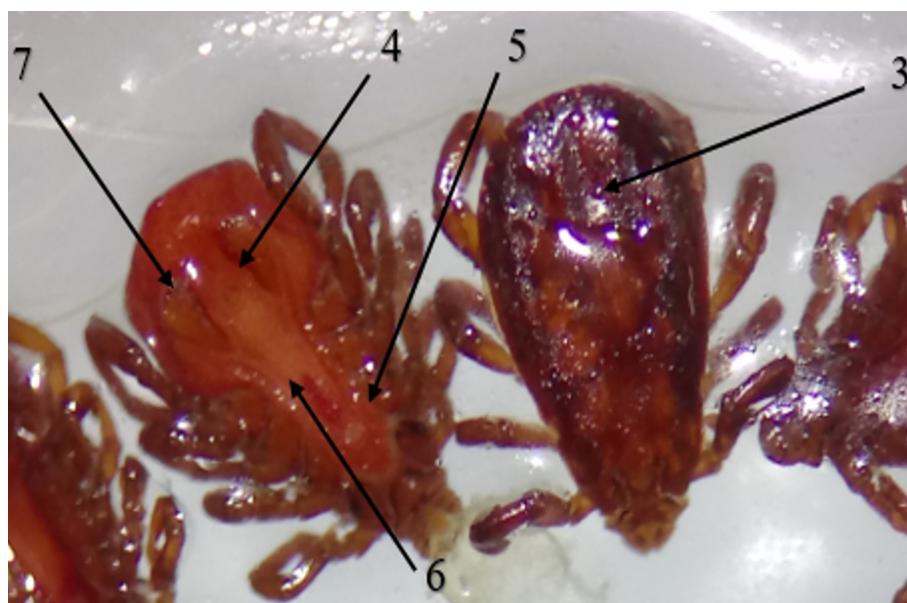
Nota. 4: Ano, 5: Orificio genital.

Figura 20. Garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Hembra pleto-rizada) /Quijano, Ramirez.



Nota. 1: Festones, 2: Capítulo hexagonal, 3: Escudo dorsal completo.

Figura 21. Garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Macho) /Quijano, Ramírez.



Nota. 3: Escudo dorsal completo, 4: Ano, 5: Orificio genital, 6: Surco genital, 7: Placas ventrales.

Figura 22. Garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Macho) /Quijano, Ramírez.

La garrapata canina marrón, garrapata de perro o garrapata café del perro (*Rhipicephalus sanguineus*) es un artrópodo ectoparásito hematófago de la familia Ixodidae, que ataca con frecuencia los perros, aunque también puede parasitar a otros animales domésticos, salvajes e incluso ocasionalmente al humano. Su tamaño es variable, las hembras son generalmente más grandes que los machos (dimorfismo sexual), también influye el que se estén o no alimentando, es así que, si una garrapata adulta hembra se encuentra en ayuno, su cuerpo medirá cerca de tres milímetros de largo, pero cuando se alimenta esta misma hembra puede llegar a medir cerca de 12 milímetros

(incluso 30mm) de largo. Su coloración es marrón rojizo, las hembras tienen el cuerpo más oscuro, especialmente en la cara frontal del carapacho. Los cuatro pares de patas son de color marrón. Las ninfas miden cerca de un milímetro de largo, mientras que las larvas miden 0.5 milímetros.

Resultado de extendido de hemolinfa de las garrapatas

En las figuras 23 a, b y c, se observan las espiroquetas en los extendidos de hemolinfa de las garrapatas que parasitaban los caninos muestreados con la tinción de Wright.

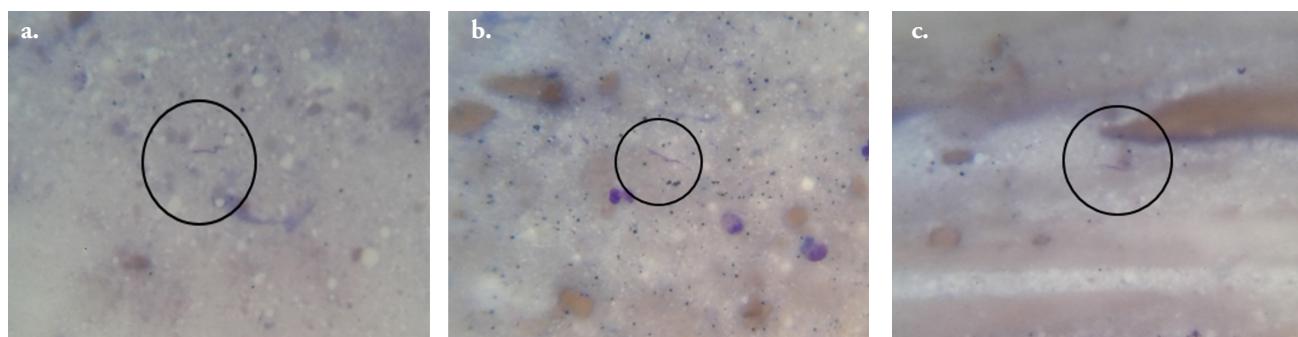


Figura 23. Espiroquetas en extendido de hemolinfa de garrapata /Quijano, Ramírez.

Discusión

Al revisar la literatura relacionada con estudios sobre *Borrelia burgdorferi*, en población canina en nuestro país, no se encontró información existente, por lo cual este trabajo busca contribuir con nuevo conocimiento

al evidenciar la presencia de esta bacteria en diferentes territorios del país.

Para la detección de anticuerpos de tipo IgG contra *Borrelia burgdorferi*, se utilizó la metodología de Inmunofluorescencia Indirecta. En este caso el anticuerpo a detectar

es una inmunoglobulina IgG y el antígeno son las cepas bacterianas B31 y 297 de *Borrelia burgdorferi*. Esta técnica posee ciertas limitaciones para la detección del microorganismo, debido a que esta bacteria tiene diversidad antigenica en un porcentaje muy elevado, lo que contribuye a que el sistema inmunológico genere anticuerpos específicos contra ciertos epítopes.

Los anticuerpos de tipo IgG, comienzan a aumentar lentamente luego de semanas o meses de iniciada la infección, lo que limita el diagnóstico temprano.

La interpretación y la lectura de la inmunoreactividad depende de la concentración de anticuerpos que posea el canino, como dice Aguero-Rosenfeld (17), si el canino presenta una concentración alta de anticuerpos contra el microorganismo al realizar la prueba, la inmunofluorescencia será alta, pues esta técnica es directamente proporcional, pero si la concentración es muy baja o se encuentra en el periodo inicial de la infección la inmunofluorescencia será baja o nula.

Con la técnica de inmunofluorescencia indirecta para anticuerpos tipo IgG se obtuvieron resultados positivos en el 65% del total de la población (58 canes), discriminados así: en el municipio de Honda, Tolima (n= 12) 66.6% de positividad, en La Mesa, Cundinamarca (n= 28) 46.1% y en el municipio de Chía, Cundinamarca (n= 18) 94,4%. Estos porcentajes indican que los

caninos de los tres municipios estudiados están siendo afectados por el microorganismo *Borrelia burgdorferi* y que probablemente padecen la enfermedad de Lyme.

Borrelia burgdorferi posee una capacidad extraordinaria para generar adaptaciones a diferentes condiciones ambientales y a diversos vectores, este fenómeno se debe a la transición de los diferentes entornos del ciclo enzoótico que requiere no solo la “regulación diferencial de los genes, sino que probablemente haya llevado a adaptaciones moleculares reflejadas en su curiosa arquitectura genómica” (18), pues *Borrelia burgdorferi*, tiene uno de los genomas bacterianos más complejos, debido a que “consiste en un cromosoma lineal de 50950 kb y un complemento variable de plásmidos circulares (cps) y plásmidos lineales (lps) que varían en tamaño de 9 a 62 kb”(19). La mayoría de los genes que codifican las lipoproteínas expresadas en la membrana externa, presumiblemente mediado por la transición que se emplea en el ciclo enzoótico se localizan en los plásmidos, pues “algunos plásmidos circulares y lineales son esenciales para el ciclo enzoótico pero no para la propagación in vitro, como lp28-1, lp25 y algunos miembros de la familia cp32, al menos algunos cp32s son profagos que pueden ser transducidos” (20), en particular, “cp26 es el único plásmido de una sola copia que se conoce que es esencial para el crecimiento in vitro: transporta resT, que codifica la resolución del telómero necesaria para replicar moléculas

lineales y también transporta ospC” (21), que se requiere para la “transmisión de la garrapata a los vertebrados y su infectividad” (22), otorgándole a este microorganismo una patogenia de amplio espectro.

Borrelia burgdorferi, posiblemente ha desarrollado una adaptabilidad tan grande a diversos entornos, gracias a la transferencia horizontal de genes o HGT (por sus siglas en inglés) este mecanismo consiste en adquirir genes de otras bacterias mediante diferentes estrategias que llevan a ampliar el código genético, esta puede ser una de las razones por las cuales esta bacteria tiene un genoma tan grande y compuesto por secciones de plásmidos con un porcentaje tan elevado. Además del mecanismo de transferencia horizontal de genes (HGT), conlleva “la variación genética que se genera efectivamente durante la infección de los mamíferos por un sistema de recombinación intrigante en el locus vlsE” (23). Este locus le confiere una característica elemental a *Borrelia burgdorferi* relacionada con la posibilidad de evadir la respuesta inmune adaptativa para persistir en el huésped vertebrado, pues la mezcla de los “epítopos antigenicos expuestos de una proteína de superficie importante durante la infección del huésped es una estrategia utilizada por muchas otras bacterias patógenas persistentes, incluidas *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum* y *Borrelia hermsii* como mecanismo de evasión. Sin embargo, los mecanismos moleculares em-

pleados por *B. burgdorferi* para generar diversidad antigenica son inusuales” (24). En 1997, se hizo un aporte al conocimiento sobre *Borrelia burgdorferi* en el que “descubrieron el sistema vls (secuencia variable similar a la proteína principal) que crea epítulos muy diversos de la membrana externa de la lipoproteína VlsE durante la infección de los mamíferos” (25).

Es así como en una infección persistente los organismos patógenos requieren estrategias efectivas para defenderse de la respuesta inmune del huésped. Una estrategia común es la variación continua de los epítulos de superficie a través de la mezcla recombinante de información genética.” *Borrelia burgdorferi*, codifica una lipoproteína unida a la superficie, VlsE; esta proteína está codificada por el locus vlsE transportado en el extremo derecho del plásmido lineal lp28-1” (26). Gracias a todos estos mecanismos que posee, tiene la capacidad de adaptarse a diferentes pisos térmicos y de cambiar de vector, pues la literatura científica afirma que el microorganismo es transmitido por el género de artrópodos *Ixodes*, pero mediante este estudio se demuestra que en los municipios de Honda-Tolima, La Mesa y Chía Cundinamarca, se describe como vector de *Borrelia burgdorferi* a *Rhipicephalus sanguineus*. Esta información obtenida brinda un aporte importante a la ciencia, ya que los resultados indican que el microorganismo ha cambiado de vector y se informa por primera vez en la literatura científica, mediante este estudio.

Al indagar sobre el género *Borrelia*, se encontró que algunos autores afirman que este género posee una característica clínica muy particular, que le permite ocasionar picos febriles inconsistentes con intervalos de días o hasta semanas. La explicación a esta sintomatología se debe a que cuando el microorganismo viaja por el torrente sanguíneo, el sistema inmunológico genera una respuesta que no es efectiva. Al respecto Sotelo Cruz y Valencia Mayora, afirman que “un método simple y efectivo para la observación de espiroquetas es que durante el periodo febril se realice en el humano infectado un frotis delgado de sangre o uno periférico de gota gruesa y se tiña con colorantes Wright, Giemsa o naranja de acridina, también se puede utilizar la técnica de observación bajo un microscopio de campo oscuro para la identificación de dichos microorganismos” (27). De acuerdo con lo anteriormente expuesto se realizó la búsqueda de las espiroquetas en el frotis de sangre periférica de los caninos, obteniendo resultados positivos con la limitación de no poder realizar el extendido de sangre periférica en los momentos de pico febril.

Al observar espiroquetas en algunas muestras, y correlacionarlas con el resultado obtenido en las pruebas de inmunofluorescencia indirecta se infiere que los caninos estaban infectados, y que las espiroquetas observadas en el extendido viajan por el torrente sanguíneo del animal hasta conseguir su respectivo tropismo.

Al realizar la correlación, se encontró que los caninos que poseían la espiroqueta en su sangre presentaron títulos de inmunofluorescencia en 1/256 y en 1/512, lo cual se explica desde dos factores: el primero cuando *Borrelia burgdorferi* está en el torrente sanguíneo el sistema inmunológico está combatiendo al microorganismo y generando mayor concentración de anticuerpos como respuesta celular y humoral. El segundo factor se relaciona con el grado de ectoparasitosis del canino, lo cual está relacionado con una mayor concentración bacteriana.

Borrelia burgdorferi produce diversos signos clínicos como dice la médica zootecnista Blanca Boria, todos estos signos “son sistémicos como la anorexia, fiebre, depresión, cojera y dolor articular. Puede haber efusión abdominal y linfadenopatía con menos frecuencia. También hay dolor generalizado en músculo y articulaciones y adinamia. Es frecuente la cojera crónica intermitente y afectando alternativamente diversas extremidades sin más signos clínicos. En un porcentaje bajo de casos se presenta enfermedad cardíaca, neurológica y renal por glomerulonefritis” (28). Este microorganismo tiene la capacidad de afectar diversos órganos en el canino, lo cual le da un amplio espectro de signos y síntomas a nivel fisiológico y anatómico, característica que se relaciona con los tropismos. Como consecuencia de lo anterior los caninos infectados por *Borrelia burgdorferi* tienen un pronóstico reservado dado que las afecciones son multisistémicas

y su estado y evolución se relacionan con el estado inmunológico y la carga bacteriana presente.

Gonzalo Osorio, en el artículo “Search for the spirochete *Borrelia burgdorferi* senso lato by polymerase chain reaction in Chilean ticks” (29), describe el procedimiento para detectar la espiroqueta en la garrapata por PCR. Osorio junto con otros científicos mencionan que el microorganismo posee la capacidad de viajar dentro del cuerpo del artrópodo. Para confirmar la presencia de la espiroqueta en las garrapatas se realizaron frotis de hemolinfa periférica de las hembras pletorizadas, se siguió el protocolo de un extendido y se coloreó con Wright. Con este procedimiento se encontraron espiroquetas en la hemolinfa del artrópodo indicando que la espiroqueta realiza un gran camino hasta generar una infección pues los mecanismos que tiene el microorganismo le dan una asombrosa habilidad adaptativa.

Esta investigación genera un aporte a la comunidad científica colombiana a nivel de la salud pública, el campo veterinario y humano, ya que se estableció que *Borrelia burgdorferi*, está generando infecciones en caninos produciendo la enfermedad de Lyme en sus diferentes ciclos; que se adaptó a un nuevo vector y a diferentes pisos térmicos.

En el campo veterinario se hace un llamado a considerar esta infección como frecuente en la población canina y a realizar prue-

bas de laboratorio como apoyo diagnóstico cuando se encuentre la ectoparasitosis y los diversos signos específicos como el eritema migrans. Adicionalmente, es posible que este microorganismo con el tiempo genere infecciones de tipo zoonótico y enzoótico, por lo tanto, si no se toman medidas puede convertirse en un problema de salud pública. Con los resultados encontrados en este estudio se abre camino para continuar evaluando la infección en caninos de otras regiones del país, así como en otras especies de animales susceptibles de ser parasitadas por garrapatas. De igual forma es recomendable probar otras técnicas de diagnóstico de fácil acceso para los laboratorios y para los pacientes.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto se presenta el siguiente esquema que resume el círculo confirmatorio.



Figura 24. Círculo confirmatorio para enfermedad de Lyme en caninos.

Referencias

1. Leschnik M, Canine borreliosis: Are we facing the facts? J.med.vet.mycol. [Internet] 2013; 2:197-198. [Consultado 2018 nov 18]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24316153>
2. García M, Skinner C, Salas J, Ocampo J. Enfermedad de Lyme: Actualizaciones. Gac.méd. Méx. [Internet] 2014; 150:84-95 [Consultado 2019 ene 20]. Disponible en: https://www.anmm.org.mx/GMM/2014/n1/GMM_150_2014_1_084-095.pdf
3. Corrales L, Ávila S, Estupiñán S. Bacteriología Teoría y Práctica. Bogotá, D.C. Editorial Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca;2013.
4. Gomes D, Costa R, Wischral T, Santos R, Tamekuni K, Rodríguez N et al. Serosurvey of *Borrelia* in dogs, horses, and humans exposed to ticks in a rural settlement of southern Brazil. Rev. bras. parasitol. vet. [Internet]. 2016; 25 (4): 418-422. [Consultado 2018 nov 18]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbpv/v25n4/1984-2961-rbpv-S1984-29612016085.pdf>
5. Tinoco L, Quiroz H, Quintero M, Renteria T, Barreras A, López G, Horí S, Tamayo A, et al. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in dogs from a Mexico-U.S. Border desert region: pilot study. J. anim. vet. adv. [Internet] 2007; 6: 787-789. [Consultado 2019 ene 22] Disponible en: <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2007/787-789.pdf>
6. Campos C. El sistema inmunológico en los mamíferos: Las defensas del cuerpo. Rev.biol. trop. [internet] 2014;8 (1) :80-93 [Consultado 2018 feb 10] Disponible: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/nutrianimal/article/view/14921>
7. Bautista C, Mosquera J. Papel de los receptores tipo Toll en la inmunidad innata y su complicación en medicina veterinaria. Vet. Méx. [Internet] 2005; 36 (4): 453-468 [Consultado 2018 feb 10] Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42336407>
8. Girardin S, Travassos L, Herve M, Blanot D, Boneca I, Philpott D, et al. Peptidoglycan Molecular Requirements Allowing Detection by Nod1 and Nod2. J. Biol. Chem. [Internet] 2003, 278:41702-41708. [Consultado 2018 feb 10] Disponible en: <http://www.jbc.org/content/278/43/41702.full.html#ref-list-1>

9. Collado V, Porras R, Cutilli M, Gómez E. El sistema inmune innato I: sus mecanismos. RCCV. [Internet] 2008; 2(1): 1-16. [Consultado 2018 feb 10] Disponible en: <http://revistas.ucm.es/index.php/RCCV/article/view/RCCV0808120001A/22569>
10. Tizard I. Inmunología veterinaria. 10a ed. Barcelona-España: Saunders Elsevier. 2019.
11. Meryl P. Littman, VMD. Canine Borreliosis. Vet. Med. Small anim. clin. [Internet] 2003; 33: 827-862 [Consultado 2018 nov 18]. Disponible en: [http://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616\(03\)00037-8/abstract](http://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616(03)00037-8/abstract)
12. Caride Villaamil E. epidemiología de *Borrelia Burgdorferi* s.l. (Enfermedad de Lyme) en un ecosistema de pinar de montaña supramediterraneo. [Tesis doctoral en Veterinaria] Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de veterinaria. Departamento de Patología Animal; 2002.
13. Rodríguez I. Actualización acerca de *Borrelia burgdorferi* sensu lato y enfermedad de lyme. Rev. cuba. med. trop. [Internet] 2013; 65(2): 149-165. [Consultado 2019 ene 20]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v65n2/mtr02213.pdf>
14. Orestes L, Infante J, Ramírez C, Lavastida H. Enfermedad de Lyme: Historia, microbiología, epizootiología y epidemiología. Rev. cuba. hig. epidemiol. [Internet] 2011; 50(2): 231-244 [Consultado 2019 ene 22]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hie/v50n2/hie12212.pdf>
15. The center for food security and public health. Enfermedad de Lyme [Internet]. [Consultado 2019 ene 22]. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease.php?name=lyme-disease&lang=es>
16. Jacobson R, Chang Y, Shin S. Lyme disease: laboratory diagnosis of infected and vaccinated symptomatic dogs. Semin Vet Med Surg [Internet] 1996; 11 (3): 172-182 [Consultado 2019 feb 12]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8942214>
17. Aguero-Rosenfeld M, Wang G, Schwartz I, Wormser G. Diagnosis of Lyme Borreliosis. Clin Microbiol Rev. [Internet] 2005; 18(3): 484-509. [Consultado 2019 ene 20]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1195970/pdf/0038-04.pdf>
18. Brisson D, Drecktrah D, Eggers C, Samuels D. Genetics of *Borrelia burgdorferi*. Ann. rev. genet. [Internet] 2012; 46: 513-34. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-genet-011112-112140>
19. Casjens S, Mongodin E, Qiu W, Luft B, Schutzer S, Gilcrease E. et al. Genome Stability of Lyme Disease Spirochetes: Comparative Genomics of *Borrelia burgdorferi* Plasmids. Plos ONE. [Internet] 2012; 7 (3). [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0033280>
20. Lagal V, Postic D, Ruzic-Sablje E, Baranton G. Genetic Diversity among *Borrelia* Strains Determined by Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis of the *ospC* Gene and Its Association with Invasiveness. J. clin. microbiol. [Internet] 2003; 41 (11): 5059-5065. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC262544/>
21. Marconi R, Samuels D, Garon C. Transcriptional Analyses and Mapping of the *ospC* Gene in Lyme Disease Spirochetes. J. Bacteriol. [Internet] 1993; 175(4): 926-932. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC193003/>
22. Chaconas G, Kobryn K. Structure, Function, and Evolution of Linear Replicons in *Borrelia*. Annu. Rev. Microbiol. [Internet] 2010; 64: 185-202. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.micro.112408.134037?rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&journalCode=micro
23. Lin T, Gao L, Edmondson D, Jacobs M, Philipp M, Norris S. Central Role of the Holliday Junction Helicase RuvAB in vlsE Recombination and Infectivity of *Borrelia burgdorferi*. Plos ONE. [Internet] 2009; 5 (12). [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1000679>
24. Radolf J, Calimano M, Stevenson B, T.Hu L. Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. Nat. Rev. Microbiol. [Internet] 2012 10(2): 87-99. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22230951>

25. Zhang J, Hardham J, Barbour A, Norris S. Antigenic Variation in Lyme Disease Borreliae by Promiscuous Recombination of VMP-like Sequence Cassettes. *Cell*. [Internet] 1997; 89: 275-285. [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9108482>
26. Dresser A, Hardy P, Chaconas G. Investigation of the Genes Involved in Antigenic Switching at the vlsE Locus in *Borrelia burgdorferi*: An Essential Role for the RuvAB Branch Migrase. *PLoS Pathog*. [Internet] 2009; 5 (12). [Consultado 2019 mar 17] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2779866/>
27. Cruz N, Mayoral P. Borreliosis, fiebre recurrente causada por espiroquetas. Informe de un caso. *Bol. méd. Hosp. Infant. Méx*. [Internet] 2012;69(2):121-125 [Consultado 2019 mar 20] Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462012000200008
28. Boria B. Enfermedad de Lyme: presentación de casos clínicos y conocimiento de la enfermedad entre veterinarios y estudiantes en los municipios de Veracruz y Boca del Rio. [Tesis de grado para obtención de título de Médico Veterinario Zootecnista] Veracruz: Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia; 2012.
29. Osorio G. Búsqueda de la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* sensu lato mediante PCR en garrapatas ixoideas chilenas silvestres. *Rev. méd. Chile*. [Internet] 2001;129(3). [Consultado 2019 mar 20] Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872001000300006

Excusiones de glucosa en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 tratados con vildagliptina más metformina Galvus Met®, versus glimepirida más metformina –GLOBE–: Ensayo clínico aleatorizado

Glucose excursions in patients with type 2 diabetes mellitus treated with vildagliptin plus metformin Galvus Met®, versus glimepiride plus metformin -GLOBE-: Randomized clinical trial.

Julián Coronel Arroyo¹

Resumen

Objetivos. La hemoglobina glicada podría sub-representar las fluctuaciones diarias de la glucemia. Se han propuesto múltiples técnicas para estudiar la variabilidad glucémica con el fin de conocer más claramente el control metabólico de la enfermedad. El objetivo de este estudio es comparar la variabilidad glucémica medida por MAGE y CONGA en el grupo de intervención y control; Además, comparar los resultados de variabilidad glucémica obtenidos antes y 12 semanas después del inicio del tratamiento en ambos grupos. **Métodos.** Ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, de etiqueta abierta, fase IV. Cuarenta sujetos aleatorizados para recibir vildagliptina más metformina1 o glimepirida más metformina por un periodo de 12 semanas. Se realizaron monitoreos continuos de glicemia antes y después del periodo de tratamiento utilizando dispositivos iPro2. Se compararon los resultados de variabilidad glucémica medida por MAGE, CONGA y DET. Se comparó el perfil de seguridad y tolerabilidad de las intervenciones. **Resultados.** El uso de GalvusMet® o glimepirida más metformina por 12 semanas en pacientes diabéticos con mal control glucémico se asoció con una reducción estadísticamente significativa de la variabilidad glucémica (Valor p Wilcoxon <0,005) y de la HbA1c (Valor p Wilcoxon <0,005) en ambos grupos; sin embargo, no se encontró evidencia suficiente para determinar la superioridad

1. Director Centro Médico Julián Coronel. Director Unidad de Investigación del CMJC Carrera 59 No. 1E - 21. Cali - Colombia. Teléfono PBX: (57+2) 5529620 - Fax: (57+2) 5535369
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0805-4746>

Correo electrónico de correspondencia: jcoronel@juliancoronel.com

► <https://doi.org/10.22490/24629448.6181>

Recibido: 13/01/2022
Aceptado: 03/05/2022

de ninguno de los tratamientos. No se detectaron diferencias en el perfil de seguridad ni tolerabilidad de los medicamentos. **Conclusiones.** Los resultados del estudio sugieren que los esquemas de tratamiento evaluados son equivalentes. Se requieren estudios adicionales para determinar la importancia clínica de los resultados.

Palabras claves: diabetes mellitus, hipoglucemia, vildagliptina, metformina.

Abstract

Objectives. Glycosylated hemoglobin could under-represent daily fluctuations in blood glucose. Multiple techniques have been proposed to study glycemic variability in order to better understand the metabolic control of the disease. The objective of this study is to compare the glycemic variability measured by MAGE and CONGA in the intervention and control group; In addition, compare the glycemic variability results obtained before and 12 weeks after the start of treatment in both groups. **Methods.** Phase IV, randomized, multi-center, open-label clinical trial. Forty subjects were randomized to receive vildagliptine plus metformin1 or glimepiride plus metformin for a period of 12 weeks. Continuous blood glucose monitoring was performed before and after the treatment period using iPro2 devices. The results of glycemic variability measured by MAGE, CONGA and DET were compared. The safety and tolerability profile of the interventions was compared. **Results.** The use of GalvusMet® or glimepiride plus metformin for 12 weeks in diabetic patients with poor glycemic control was associated with a statistically significant reduction in glycemic variability (Wilcoxon p-value <0.005) and HbA1c (Wilcoxon p-value <0.005) in both groups; however, insufficient evidence was found to determine the superiority of the treatments. No differences were detected in the safety or tolerability profile of the drugs. **Conclusions.** The results of the study suggest that the evaluated treatment regimens are equivalent. Additional studies are required to determine the clinical significance of the results.

Keywords: diabetes mellitus, hypoglycemia, vildagliptin, metformin.

Introducción

La Diabetes Mellitus (DM) se ha convertido en una enfermedad endémica de alcance global, siendo actualmente un importante problema de salud pública. Se estima que la prevalencia de la enfermedad en Latinoamérica en la población adulta está entre 6 y 8% (1), mientras que a nivel mundial llegará a ser del 4.4% en el año 2030 (2). La DM es una de las principales causas de insuficiencia renal crónica, ceguera adquirida en la edad adulta, amputaciones no traumáticas, infarto agudo de miocardio y accidente cerebro-vascular isquémico o hemorrágico (3).

Se ha observado una relación inversamente proporcional entre el grado de control metabólico de la enfermedad y el riesgo de complicaciones micro-vasculares en pacientes con DM e incluso niveles de hemoglobina glicada (HbA1c) menores a 7.0% han demostrado retardar la ocurrencia de complicaciones (4-7). Adicionalmente, a pesar de la evidencia que soporta el uso de la HbA1c para evaluar control de la DM, algunos estudios sugieren que los niveles y fluctuaciones de esta, pueden tener un papel importante en el desarrollo de complicaciones y en la morbimortalidad asociada a la DM, conocido como variabilidad glucémica (8-10). El mecanismo por el cual la variabilidad glucémica puede inducir la aparición de complicaciones no es bien conocido, puede estar relacionado con una mayor producción de especies reactivas de

oxígeno, estrés oxidativo e inflamación, lo cual produce disfunción endotelial, adicionalmente estrés oxidativo aún más que la hiperglucemia crónica sostenida (11-15).

Si bien aún no hay un estándar definido para evaluar la variabilidad glucémica, se cuenta con indicadores que buscan medir la variabilidad en un día determinado y/o proporcionar información de varios días (16). Entre los métodos más utilizados figuran: la Desviación Estándar (DE), permite evaluar la variabilidad glucémica de un mismo día integrando las fluctuaciones menores y mayores a partir del valor medio de glucosa; la amplitud media de las excusiónes glucémicas o MAGE (por su nombre en inglés, *Mean Amplitude of Glycemic Excursions*) (17), busca evaluar los cambios significativos en la glucemia, considerando para ello solo las variaciones verdaderamente extremas de la glucemia (mayores a una desviación estándar) a fin de descartar el efecto de los cambios menores clínicamente no significativos (18-20).

Hasta el momento no se han realizado estudios que evalúen el efecto de las sulfonilúreas (SU) sobre la variabilidad glucémica, aunque sí se cuenta con estudios realizados con inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4) donde se compara el efecto de vildagliptina y sitagliptina sobre las excusiónes glucémicas, concluyendo que MAGE fue significativamente inferior en los pacientes que tomaron vildagliptina (17,18). Teniendo

en cuenta la escasa evidencia disponible, se decidió llevar a cabo este ensayo clínico que busca comparar la variabilidad glucémica de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 no controlada tratados con terapia combinada de vildagliptina más metformina1 versus aquellos tratados con glimepirida y metformina de liberación estándar.

Metodología

Diseño del estudio

Ensayo clínico de asignación aleatoria, multicéntrico, de etiqueta abierta, fase IV. Los centros participantes en el estudio se distribuyeron en las regiones Pacífica, Caribe y Andina de Colombia. Los centros con mayor número de sujetos aleatorizados fueron los ubicados en la ciudad de Cali con 28 (70%) pacientes aleatorizados. Este estudio clínico se registró en el sitio web www.clinicaltrials.gov con el número de identificación: NCT02007278

Participantes

Se estudiaron pacientes con DM tipo 2 que hubiesen recibido tratamiento con dosis estables de metformina (≥ 1.500 mg al día) por al menos 4 semanas, quienes, a pesar de esa terapia, tuviesen valores de HbA1c entre 7.5 y 10.5%, y que requirieran iniciar el uso de vildagliptina o glimepirida en adición a la metformina, según el criterio del investigador.

Se excluyeron pacientes con historia de cetoacidosis diabética, uso de cualquier medicamento antidiabético diferente a metformina durante los 3 meses previos al estudio, mujeres en embarazo o lactancia, pacientes que en los laboratorios de la visita 1 hubiesen tenido tasas de depuración de creatinina inferiores a 50 ml/min (estimada por la fórmula de CKD-EPI), o elevación de aminotransferasas (ALT o AST) 2.5 veces o más por encima del límite superior normal; pacientes con antecedente de insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedades psiquiátricas que amenazaran la adherencia al tratamiento, cirugía mayor (que hubiese requerido anestesia general o regional) en el último mes, cirugía bariátrica o condiciones médicas asociadas con malabsorción, uso de esteroides orales o de depósito (más de 10 mg al día de prednisona o prednisolona orales o su equivalente parenteral en el último mes); infección aguda concurrente; sujetos que estuvieran participando en otros estudios clínicos o que no hubieran completado al menos 30 días desde la finalización del estudio anterior y aquellos con cualquier condición médica que amenazara su supervivencia en los siguientes 12 meses o comprometiera la comprensión para cumplir con los procedimientos del estudio.

Este estudio clínico fue diseñado para implementarse y reportarse de acuerdo con la Guía de Buena Práctica Clínica (BPC) de la Conferencia Internacional de Armonización, (ICH), con los principios de la Declaración

de Helsinki y con las regulaciones locales colombianas contenidas en la Resolución 8430 de 1993, del Ministerio de Salud.

Objetivos

Como objetivo primario, se comparó la variabilidad glucémica medida por MAGE en los dos grupos; secundariamente se midió la variabilidad glucémica a través del CON-GA (ie. *Continuous Overall Net Glycemic Action*) y de la desviación estándar total (DET). Además, se compararon los resultados de variabilidad glucémica obtenidos antes y 12 semanas después del inicio del tratamiento en ambos grupos. También se comparó el porcentaje de pacientes de cada brazo del estudio que logró un descenso igual o mayor a 0.3% en su valor de HbA1c en la semana 12 de tratamiento, así como la mediana de reducción de la HbA1c en cada grupo. Finalmente, se describió la co-

rrelación entre el valor del MAGE y la incidencia de casos de hipoglucemia, así como el perfil de seguridad y tolerabilidad de los esquemas de tratamiento en estudio.

Intervenciones

Los sujetos fueron aleatorizados para recibir vildagliptina más metformina1 o glimepirida más metformina por un periodo de 12 semanas. Se administró solamente metformina de liberación estándar. Los tratamientos fueron de etiqueta abierta. Una vez aleatorizado el sujeto, el investigador verificó la dosis de metformina que este recibía en el momento de la inclusión y de acuerdo con la Tabla 1 definió la dosis de Galvus Met® o de glimepirida más metformina que debía recibir. En las visitas de seguimiento, el investigador podía incrementar la dosis de los medicamentos un nivel hacia arriba (tabla 1).

Tabla 1. Dosis de medicamento de estudio durante el protocolo según dosis basal de metformina y según esquema de tratamiento.

Dosis diaria de metformina en la visita 1	Dosis de ajuste de Terapia A (Galvus Met®)		Dosis de Ajuste de Terapia B (glimepirida + metformina de acción estándar)		
	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3
1.500 mg	50/850 bid	50/1.000 bid	2 mg qd + 850 mg bid	4 mg qd + 850 mg bid	6 mg qd + 850 mg bid
1.700 mg	50/850 bid	50/1.000 bid	2 mg qd + 850 mg bid	4 mg qd + 850 mg bid	6 mg qd + 850 mg bid
2.000 mg	50/1.000 bid	NA	2 mg qd + 1.000 mg bid	4 mg qd + 1.000 mg bid	6 mg qd + 1.000 mg bid
2.550 mg	50/1.000 bid	NA	2 mg qd + 1.000 mg bid	4 mg qd + 1.000 mg bid	6 mg + 1.000 mg bid

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto al seguimiento, se realizaron en total 8 visitas, 7 presenciales y 1 telefónica. Los monitoreos continuos de glucosa iniciaron en las visitas 2 y 6, y terminaron 72 a 96 horas después, en las visitas 3 y 7, respectivamente.

Si en la visita de seguimiento el participante había presentado hipoglucemia sintomática o asintomática (glucometrías < 70 mg/dl) en 3 mediciones en ayunas o postprandiales durante ese mes, era retirado del estudio. Sin embargo, no se retiraron del estudio aquellos pacientes que, recibiendo el tratamiento a la dosis más baja, hubiesen presentado hipoglicemia por causas ajenas al medicamento según el criterio del investigador.

En ningún caso el paciente debía recibir otros medicamentos antidiabéticos o recibir una dosis del medicamento de estudio inferior a la dosis más baja (tabla 1). Si esto se consideraba necesario, el paciente debía ser retirado del estudio. Se realizaron monitoreos continuos de glucosa utilizando dispositivos iPro2 (Medtronic, Northridge, CA) en dos momentos: antes del inicio del tratamiento y 12 semanas después de iniciado el mismo. Los dispositivos fueron colocados siguiendo el manual del equipo. El monitoreo se efectuó durante 72 horas en cada momento. Los datos obtenidos en los monitoreos continuos de glucosa fueron utilizados para calcular la variabilidad glucémica por MAGE, CONGA y DET. Los cálculos

fueron realizados por el Dr. Nathan Hill del Departamento de Ciencias de la Salud en Cuidado Primario en la Universidad de Oxford, Reino Unido; usando la versión 9.0 del software EasyGV (21).

El tamaño de muestra esperado era de 50 sujetos, sin embargo, sólo 40 pacientes ingresaron al estudio en el periodo de reclutamiento. Para el análisis de los objetivos relacionados con medidas de variabilidad glucémica, se tuvieron en cuenta sólo 32 de los 40 pacientes aleatorizados. Para estos 32 participantes se realizó una descripción de sus características basales y laboratorios, evidenciándose mínima variación con respecto al grupo inicialmente aleatorizado. Teniendo en cuenta el tamaño de muestra, todas las comparaciones se realizaron mediante análisis no paramétricos.

Para la asignación del tratamiento, el sitio de investigación recibió 5 sobres cerrados, cada uno con una tarjeta marcada con uno de los dos posibles tratamientos a asignar: terapia A (Galvus Met[®]) o terapia B (glimpirida más metformina). La asignación del sobre de tratamiento a cada participante se hizo en estricto orden de inclusión en el estudio con base en una numeración que fue entregada al centro y que obedeció a un procedimiento de aleatorización centralizado. Una vez seleccionado el sobre, y abierto por el investigador en presencia del participante, la tarjeta en su interior fue marcada con la fecha y con las iniciales del sujeto de

investigación, así como con su número dentro del protocolo.

Cambios metodológicos a lo largo del estudio

Debido a que la fabricación del glucómetro entregado a los primeros pacientes aleatorizados fue descontinuada, los pacientes aleatorizados posteriormente utilizaron un glucómetro diferente. Dos años después de iniciado el reclutamiento, el patrocinador y los centros de investigación consideraron que no era posible alcanzar la meta de reclutamiento establecida y decidieron cerrar el estudio prematuramente el día 22 de febrero del 2016.

Para el análisis estadístico, se verificó la digitación del 100% de los datos del formato de reporte de caso (FRC) en el sistema de captura electrónica y toda la información introducida en la base de datos fue analizada para asegurar que estuviera completa y que fuera coherente. Los datos recolectados se resumieron para el análisis descriptivo por medio de tablas y gráficos, según correspondía. Se realizaron análisis bivariados basados en pruebas t, pruebas de Wilcoxon o Mann-Whitney de acuerdo con la distribución de las variables subyacentes que fueron de tipo continuo. No hubo variables categóricas que requirieran un análisis bivariado (Chi- cuadrado o prueba exacta de Fisher). Teniendo en cuenta que el estudio fue cerrado anticipadamente, se efectuó un

análisis de las fallas de tamizaje con la descripción de las causas principales de falla.

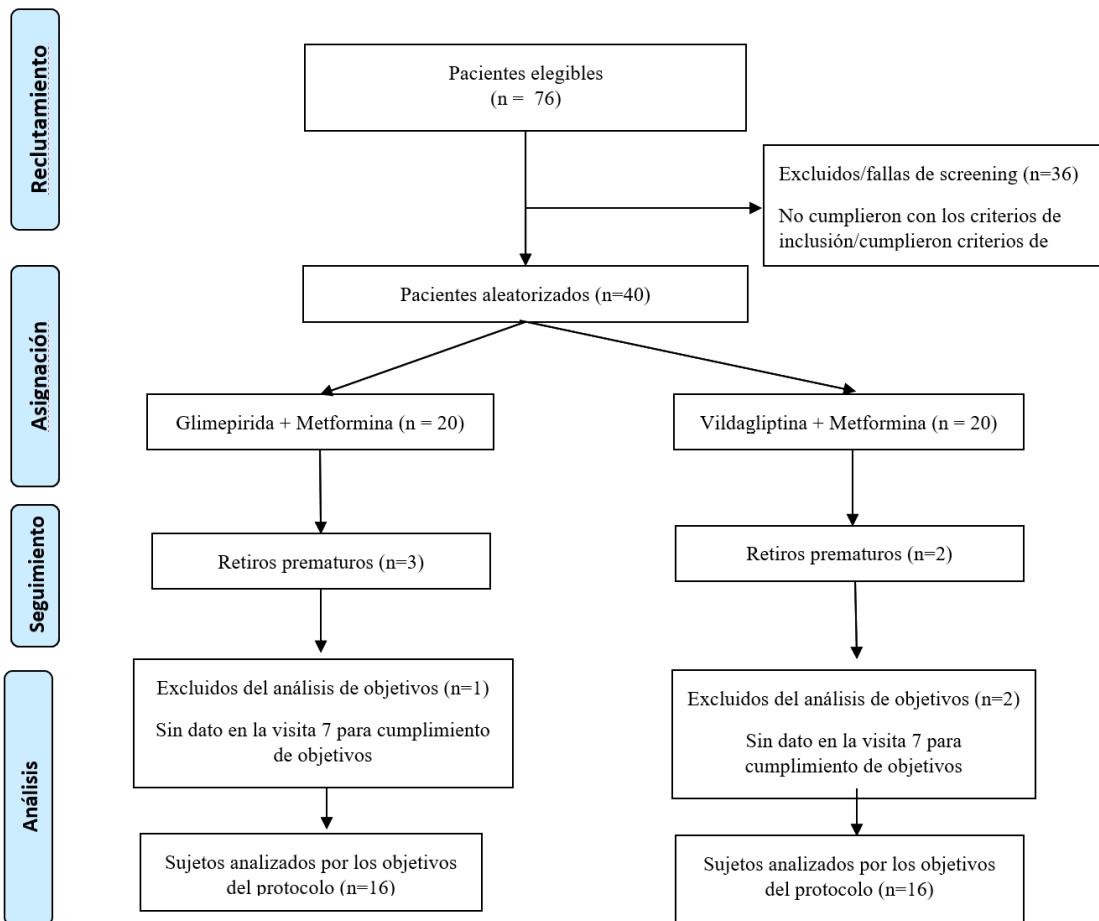
Resultados

Se tamizaron 76 pacientes en 7 centros de investigación en Colombia, obteniéndose 40 pacientes elegibles para aleatorización, 20 en cada grupo de tratamiento (Figura 1). Cinco sujetos se retiraron prematuramente (ver causas del retiro en la Tabla 2) y tres más no aportaron datos de seguimiento, por lo anterior, el análisis de los desenlaces del estudio se basó en un total de 32 pacientes. Un paciente que cumplía los criterios de inclusión y ninguno de exclusión no fue aleatorizado ya que antes de este procedimiento presentó perdida de seguimiento, por lo anterior, se contabilizó dentro del grupo de los excluidos. La Tabla 3 resume las características demográficas de los sujetos incluidos en cada grupo.

Tabla 2. Causas del retiro prematuro de pacientes del estudio GLOBE.

	Galvus Met*	Glimepirida + Metformina	Total
	N=20	N=20	N=40
	n (%)	n (%)	n (%)
Completado	18 (90,0)	17 (85,0)	35 (87,5)
Descontinuación prematura del estudio	2 (10,0)	3 (15,0)	5 (12,5)
Causas de la descontinuación prematura	n=2	n=3	n=5
Enrolamiento incorrecto antes de aleatorización	1 (50,0)	1 (33,3)	2 (40,0)
Ingesta de medicamentos no permitidos en el estudio	0 (0,00)	1 (33,3)	1 (20,0)
Administración incorrecta del medicamento	1 (50,0)	0 (0,00)	1 (20,0)
Incumplimiento de un criterio de elegibilidad	0 (0,00)	1 (33,3)	1 (20,0)

Fuente: Elaboración propia.

Figura 1. Flujograma de disposición de los pacientes del Estudio GLOBE.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 3. Características Basales de los pacientes alatorizados*

Características	Glimepirida + Metformina (n=20)	Galvusmet (n=20)
Edad		
Promedio (DE)	55.30 (11.41)	56.28 (10.49)
Mediana (Rangos)	56.19 (30.92 - 75.64)	55.29 (37.84 - 84.97)
Sexo		
Femenino	8 (40,0)	15 (75,0)
Masculino	12 (60,0)	5 (25,0)
Raza		
Blanco	7 (35,0)	5 (25,0)
Africano	2 (10,0)	3 (15,0)
Mestizo	9 (45,0)	10 (50,0)
Otro	2 (10,0)	2 (10,0)
Fumador		
Nunca	12 (60,0)	13 (65,0)
Exfumador	5 (25,0)	6 (30,0)
Fumador	3 (15,0)	1 (5)
Antecedentes patológicos		
Hipertensión Arterial	11 (55,0)	12 (60,0)
Enfermedad Coronaria	2 (10,0)	2 (10,0)
Retinopatía Diabética	1 (5,6)	1 (5,0)
Ulceras cutáneas	1 (5,3)	1 (5,0)
Enfermedad cerebrovascular	1 (5,3)	1 (5,0)
Hipotiroidismo	0 (0)	1 (5,3)
Neuropatía diabética	0 (0)	1 (5,0)

Características	Glimepirida + Metformina (n=20)	Galvusmet (n=20)
Ejercicio		
Si	9 (45)	10 (50,0)
No	11 (55)	10 (50,0)
Tensión Sistólica (mm/Hg)		
Promedio (DE)	132,7 (12,04)	130,20 (14,85)
Mediana (Rangos)	130 (115 - 160)	129 (106 - 160)
Tensión Diastólica (mm/Hg)		
Promedio (DE)	82,8 (7,91)	79,10 (5,91)
Mediana (Rangos)	80 (70 - 100)	80 (70 - 90)
Frecuencia cardíaca (lat/min)		
Promedio (DE)	78,55 (6,66)	75,10 (9,19)
Mediana (Rangos)	78 (60 - 90)	77 (50 - 95)
Peso (Kg)		
Promedio (DE)	82,6 (12,75)	74,25 (13,18)
Mediana (Rangos)	81,6 (61,4 - 115)	75,75 (47,4 - 95,8)
Talla (m)		
Promedio (DE)	1,65 (0,11)	1,60 (0,07)
Mediana (Rangos)	1,67 (1,4 - 1,82)	1,6 (1,48 - 1,76)
Índice de Masa Corporal (kg/m²)		
Promedio (DE)	30,31 (4,37)	28,78 (4,85)
Mediana (Rangos)	28,82 (24,45 - 38,77)	28,68 (21,10 - 39,87)
Glicemia Plasmática inicial (mg/dl)		
Promedio (DE)	168,75 (51,06)	175,85 (55,79)
Mediana (Rangos)	170,5 (98 - 272)	156,5 (99 - 306)

Características	Glimepirida + Metformina (n=20)	Galvusmet (n=20)
HbA1c inicial (%)		
Promedio (DE)	8,84 (0,86)	8,95 (0,93)
Mediana (Rangos)	8,5 (7,8 - 10,5)	8,85 (7,5 - 10,4)
AST (U/L)		
Promedio (DE)	22,58 (14,73)	24,35 (20,98)
Mediana (Rangos)	17 (12 - 76)	18 (12 - 101)
ALT (U/L)		
Promedio (DE)	29,7 (24,64)	23,95 (14,73)
Mediana (Rangos)	21,3 (12 - 96)	18,5 (5 - 58)
BUN (mg/dl)		
Promedio (DE)	13,42 (4,62)	14,27 (4,20)
Mediana (Rangos)	12,05 (7,6 - 21,5)	13,35 (8,9 - 28,3)
Depuración de creatinina (ml/min/1,73 m²)		
Promedio (DE)	99,49 (12,16)	98,62 (12,70)
Mediana (Rangos)	100,4 (82 - 132)	100,9 (80,6 - 127)
Eventos de hipoglucemia		
Sí	4 (20,0)	1 (5,0)
No	16 (80,0)	19 (95,0)

* Los datos se presentan como número(porcentaje) de pacientes a menos que se indique otra medida de tendencia y dispersión.

Fuente: Elaboración propia.

El estudio inició el 3 de enero de 2014 y aunque en el protocolo inicial se estableció un periodo de reclutamiento de 17 semanas, éste se modificó a un periodo de reclutamiento abierto debido a la alta tasa de fallas de tamizaje.

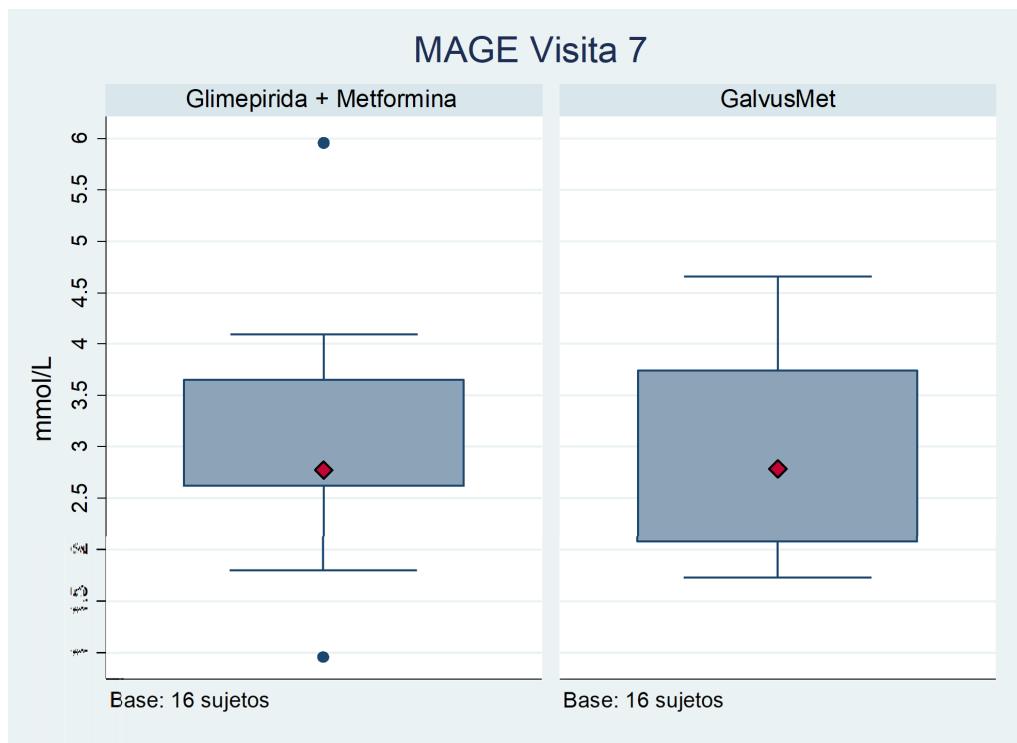
Desenlace primario: variabilidad glucémica medida a través del MAGE

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de variabilidad glicémica medida por MAGE

registrados en la visita 7 entre los pacientes tratados con Glimepirida + Metformina y los pacientes tratados con vildagliptina/met-

tformina (Valor p Mann Whitney=0,8211) (Figura 2).

Figura 2. Variabilidad glucémica medida por MAGE en la visita 7.



Fuente: Elaboración propia.

Desenlaces secundarios

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de variabilidad glicémica registrados en la visita 7 entre los pacientes tratados con Glimepirida + Metformina y los pacientes tratados con vildagliptina/metformina medida por CONGA (Valor p Mann Whitney=0,4510) ni por DET (Valor p Mann Whitney=0,7063). En el grupo que recibió vildagliptina/metformina la variabilidad glucémica medida por MAGE, CONGA y

DET en la visita 7 fue significativamente menor a la observada en la visita 3 (Valor p Wilcoxon <0,05 para todas las variables a comparar). Adicionalmente, en el grupo tratado con Glimepirida + Metformina las mediciones de variabilidad glucémica obtenidas en la visita 7, también fueron significativamente menores a las obtenidas en la visita 3 (Valor p Wilcoxon <0,005 para todas las variables a comparar). En cuanto al descenso de HbA1c en la semana 12 de tratamiento, se obtuvieron datos completos de HbA1c de 35 de los 40 pacientes ale-

torizados, donde los 35 sujetos presentaron reducción de la HbA1c mayor a 0,3%. Además, la HbA1c en la semana 12 fue significativamente menor a la HbA1c inicial en ambos grupos de tratamiento (Valor p Wilcoxon <0,005). Sin embargo, tras comparar la mediana de reducción de la HbA1c en ambos grupos, no se encontraron diferencias significativas entre los esquemas de tratamiento (Mediana de reducción de HbA1c: Glimepirida + Metformina= 2,2%; vildagliptina/metformina= 1,9%) (Valor p Mann Whitney=0,206)

Sobre la correlación entre el valor del MAGE y la incidencia de casos de hipoglucemia, 5 pacientes reportaron eventos de hipoglucemia (15,62%; Base: 32 sujetos). La mediana para los valores de glucometrías reportados en estos eventos fue de 66,75 mg/dl (min= 59 mg/dl; max=68 mg/dl). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos con y sin eventos de hipoglucemia en cuanto a los resultados de MAGE en la visita 7 (Valor p Mann-Whitney exacto=0.6780).

En cuanto al perfil de seguridad y tolerabilidad, se evaluaron los datos de 79 registros correspondientes a 89 eventos adversos en 22 pacientes. Estos eventos adversos se agruparon de acuerdo al MedDRA versión 19.0. Uno de los 89 eventos adversos reportados fue clasificado como evento adverso serio (EAS), que correspondió a un caso de erisipela, en un paciente asignado al grupo

de tratamiento con Glimepirida + Metformina; sin embargo, el evento fue categorizado como no relacionado con el medicamento. Por otra parte, 16 de los 89 eventos adversos reportados se consideraron relacionados con el tratamiento administrado. Un test de Mann Whitney reveló que no hay diferencias estadísticamente significativas entre el número de eventos adversos que se presentaron en cada grupo (Valor p Mann-Whitney exacto=0,6058). No se registraron retiros por intolerancia en ninguno de los grupos de tratamiento.

Discusión y conclusiones

La variabilidad glucémica (medida por MAGE, CONGA y DET) fue significativamente menor 12 semanas después de iniciado el tratamiento que antes de su inicio en ambos grupos. Sin embargo, cuando se compararon las intervenciones entre sí, no se encontraron diferencias significativas en la variabilidad glucémica ni en la reducción de la HbA1c. Además, llama la atención que todos los pacientes en ambos grupos presentaron menores niveles de HbA1c al final del periodo de tratamiento.

Por otra parte, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones de variabilidad glucémica de los pacientes que presentaron episodios de hipoglucemia en comparación con aquellos que no los presentaron. Este resultado podría deberse a que

el tamaño de muestra de este estudio no se diseñó para contrastar esta hipótesis y, por lo tanto, se requieren estudios con tamaños de muestra mayores para confirmar el hallazgo.

En conclusión, el uso de vildagliptina/metformina o glimepirida más metformina por 12 semanas en pacientes diabéticos con mal control glucémico se asoció con una reducción estadísticamente significativa de la variabilidad glucémica y de la HbA1c, en ambos grupos; sin embargo, no se encontró evidencia suficiente para determinar la superioridad de ninguno de los tratamientos. Además, no se detectaron diferencias en el perfil de seguridad ni tolerabilidad de los medicamentos. Lo anterior sugiere que los tratamientos son equivalentes. Se requieren estudios adicionales para determinar la importancia clínica de estos hallazgos y su relevancia sobre la incidencia de complicaciones de la diabetes.

Se considera que algunas de las limitaciones de este estudio se deben al bajo tamaño de muestra, principalmente por la imposibilidad de los centros de investigación de alcanzar las metas de reclutamiento. Además, el tamaño de muestra disponible para el análisis de los desenlaces se redujo aún más luego de la aleatorización debido al retiro prematuro de 5 sujetos y la pérdida de seguimiento de 3 más. En el grupo asignado a vildagliptina/metformina1 como en el grupo asignado a glimepirida + metformina, los retiros prematuros se debieron a la in-

clusión incorrecta y a la administración de medicamentos no permitidos en el estudio.

Por otra parte, los glucómetros que iban a ser utilizados a lo largo del estudio (Bayer (CONTOUR TS)) fueron descontinuados por parte del fabricante sin poder identificar causas claras, ni reportes negativos o alertas publicadas por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) que pudieran explicar dicha decisión. Se realizó una revisión de los manuales operativos del glucómetro Bayer (CONTOUR TS) y del glucómetro Roche (accu-chek-active) en los que se encontró que el primero tiene una exactitud de 97.9%, y el segundo del 100% evaluados con NORMA ISO 15197. Dado que ambos glucómetros tenían rendimientos comparables, se decidió continuar el estudio usando utilizando glucómetros Roche, analizando los resultados de las glucometrías de todos los pacientes en forma agregada independientemente del glucómetro utilizado.

En cuanto al dispositivo utilizado para la monitorización continua de la glicemia (iPro2) cabe resaltar que el manual indica que el periodo de calentamiento o calibración es de una hora y no se deben tener en cuenta las mediciones registradas en este periodo. Sin embargo, durante el análisis de los datos obtenidos en el estudio se informó sobre un número importante de mediciones perdidas en la revisión de cada participante durante las 72 horas, y la presencia de pe-

riodos de calentamiento o calibración que superaban las 24 horas en varios sujetos. Por lo anterior, se decidió analizar todos los datos registrados por los iPro2 con los siguientes supuestos: que el iPro2 se calibro correctamente, que las mediciones son válidas con una calibración superior a la hora y que las mediciones perdidas de las 72 horas no afectan la variabilidad glucémica. Adicionalmente, la mayoría de los participantes aleatorizados tenían sobrepeso con una mediana de índice de masa corporal (IMC) de 28,68 (Rango: 21,10-39,87) que pudo afectar la instalación del dispositivo iPro2 y por tanto los tiempos de calibración y recolección de los datos.

Finalmente, se debe mencionar que las técnicas disponibles actualmente para la medición de la variabilidad glucémica aún no están completamente estandarizadas y existen factores que pueden afectar sus resultados como en el cálculo del MAGE operador-dependiente y varía según las secciones para el cálculo (20). Estas limitaciones descritas, limita la generalización de los resultados obtenidos en el estudio.

Financiación

Este estudio fue patrocinado por Novartis. Novartis estuvo a cargo del financiamiento del estudio, el diseño del informe de consentimiento informado, el monitoreo, la aprobación de las enmiendas al protocolo y la aprobación de las publicaciones.

Conflictos de intereses

Ninguno por declarar.

Referencias

1. Barceló A, Rajpathak S. Incidence and prevalence of diabetes mellitus in the Americas. Rev Panam Salud Pública. 2001;10(5):300–8. doi: 10.1590/s1020-49892001001100002.
2. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care. 2004 May;27(5):1047–53. doi:10.2337/diacare.27.5.1047
3. Chawla A, Chawla R, Jaggi S. Microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus: Distinct or continuum?. Indian J Endocrinol Metab. 2016;20(4):546-551. doi:10.4103/2230-8210.183480
4. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet (London, England). 1998 Sep;352(9131):837–53.
5. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT): results of feasibility study. The DCCT Research Group. Diabetes Care. 1987;10(1):1–19. doi:10.2337/diacare.10.1.1
6. The ADVANCE Collaborative Group. Intensive Blood Glucose Control and Vascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes. N Engl J Med. 2008;358(24):2560–72. doi: 10.1056/NEJMoa0802987
7. The Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Study Group. Effects of Intensive Glucose Lowering in Type 2 Diabetes. N Engl J Med. 2008;358(24):2545–59. doi: 10.1056/NEJMoa0802743
8. Huang IC, Wang PW, Liu RT, Tung SC, Chen JF, Kuo MC, et al. The influence of self-monitoring blood glucose frequency on the oscillation of hemoglobin A1c and chronic complications. Chang Gung Med J. 2012;35(1):46–53. doi: 10.4103/2319-4170.106167.

9. Kilpatrick ES. Arguments for and against the Role of Glucose Variability in the Development of Diabetes Complications. *J Diabetes Sci Technol J Diabetes Sci Technol.* 2009;3(4):649–55. doi: 10.1177/193229680900300405
10. Monnier L, Colette C, Owens DR. Glycemic variability: the third component of the dysglycemia in diabetes. Is it important? How to measure it? *J Diabetes Sci Technol.* 2008;2(6):1094–100. doi: 10.1177/193229680800200618
11. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. *Diabetes.* 2005;54(6):1615–25. doi: 10.2337/diabetes.54.6.1615
12. Monnier L, Mas E, Ginet C, Michel F, Villon L, Cristol J-P, et al. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA.* 2006;295(14):1681–7. 10.1001/jama.295.14.1681.
13. Chase JG, Shaw G, Le Compte A, Lonergan T, Willacy M, Wong X-W, et al. Implementation and evaluation of the SPRINT protocol for tight glycaemic control in critically ill patients: a clinical practice change. *Crit Care.* 2008;12(2):R49. doi:10.1186/cc6868
14. Wentholt IME, Kulik W, Michels RPJ, Hoekstra JBL, DeVries JH. Glucose fluctuations and activation of oxidative stress in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2008;51(1):183–90. doi: 10.1007/s00125-007-0842-6
15. McCarter RJ, Hempe JM, Chalew SA. Mean blood glucose and biological variation have greater influence on HbA1c levels than glucose instability: an analysis of data from the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care.* 2006;29(2):352–5. doi: 10.2337/diacare.29.02.06.dc05-1594
16. Blaak EE, Antoine JM, Benton D, Björck I, Bozzetto L, Brouns F, et al. Impact of postprandial glycaemia on health and prevention of disease. *Obes Rev.* 2012;13(10):923–84. doi: 10.1111/j.1467-789X.2012.01011.x
17. Service FJ, Molnar GD, Rosevear JW, Ackerman E, Gatewood LC, Taylor WF. Mean Amplitude of Glycemic Excursions, a Measure of Diabetic Instability. *Diabetes.* 1970 Sep 1;19(9):644 LP-655. doi: 10.2337/diab.19.9.644
18. Hill NR, Oliver NS, Choudhary P, Levy JC, Hindmarsh P, Matthews DR. Normal reference range for mean tissue glucose and glycemic variability derived from continuous glucose monitoring for subjects without diabetes in different ethnic groups. *Diabetes Technol Ther.* 2011;13(9):921–8. doi: 10.1089/dia.2010.0247
19. Rodbard D. Glycemic variability: measurement and utility in clinical medicine and research--one viewpoint. *Diabetes technology & therapeutics.* United States. 2011;13:1077–80. doi:10.1089/dia.2011.0104
20. Suh S, Kim JH. Glycemic Variability : How Do We Measure It and Why Is It Important ?. *Diabetes Metab J.* 2015; 39(4): 273–282. doi: 10.4093/dmj.2015.39.4.273
21. Hill NR, Oliver NS, Choudhary P, Levy JC, Hindmarsh P, Matthews DR. Normal reference range for mean tissue glucose and glycemic variability derived from continuous glucose monitoring for subjects without diabetes in different ethnic groups. *Diabetes Technol Ther.* 2011;13(9):921–8. doi: 10.1089/dia.2010.0247

Análisis de estudios sobre psicofármacos en una IPS del departamento de Córdoba 2012-2020

Analysis of studies of psychopharmacists in a IPS of the department of Córdoba 2012-2020

Mónica Isabel Hanna Lavalle¹, Ernesto Fuentes Fabra², Justiniano Arrazola³

Resumen

Introducción. Los psicofármacos son medicamentos utilizados en la práctica médica para tratar enfermedades mentales. **Objetivo.** Realizar un análisis comparando indicadores de consumo en la utilización de psicofármacos en una Institución de Salud mental en el Departamento de Córdoba- Colombia. **Metodología.** Estudio longitudinal, retrospectivo-transversal, estudio de utilización de medicamentos (EUM) para comparar indicadores de consumo como dosis diaria definida (DDD), número de envases, considerando el diagnóstico y variables sociodemográficas. **Resultados.** población de 3.089 pacientes, donde el 48% presento diagnóstico de trastorno mental y del comportamiento por consumo de sustancias psicoactivas, el 17% presentó trastorno afectivo bipolar y el 15% esquizofrenia paranoide, el 70% de sexo masculino y un 30% sexo femenino. Los medicamentos más consumidos fueron ácido valproico en cápsulas de 250mg, carbonato de litio en tabletas de 300mg y sertralina en tabletas de 50mg; mayor consumo lo obtuvieron los antidepresivos con 45,77%, seguido por antipsicóticos con 23,19% y por último los anticonvulsivantes con 22,39%. **Conclusión.** Se observó diferencias en la tendencia del aumento en el consumo de psicofármacos utilizando como indicadores de consumo la dosis diaria definida (DDD)

1. Universidad de Córdoba. Docente Tiempo Completo Programa de Enfermería, Universidad de Córdoba, Colombia.
Miembro del grupo "HUELLAS".

Correo electrónico: mhanna@correo.unicordoba.edu.co
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3311-0938>

2. Docente Tiempo Completo Programa Tecnología en Regencia de Farmacia, Universidad de Córdoba, Colombia. Miembro del Grupo de Investigación IDEFARMA.

Correo electrónico: efuentesfabra@correo.unicordoba.edu.co
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1329-2298>

3. Docente Tiempo Completo Programa Tecnología en Regencia de Farmacia, Universidad de Córdoba, Colombia. Miembro del Grupo de Investigación IDEFARMA.

Correo electrónico: jarrazola@correo.unicordoba.edu.co
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7458-8394>

Correo electrónico de correspondencia: mhanna@correo.unicordoba.edu.co

versus número de envases en los años de estudio. Esta investigación difiere con los resultados a nivel nacional y departamental en el sentido de que la depresión y demás problemas de salud mental se encuentran en mayor incidencia en los hombres.

Palabras claves: preparaciones farmacéuticas (DeCS), psicofármacos (MesH), utilización de medicamentos (DeCS), depresión (DeCS), trastorno bipolar (DeCS), clasificaciones anatómica terapéutica química (ATC).

Abstract

Introduction. Psychotropic drugs are drugs used in medical practice to treat mental illnesses. **Objective.** To carry out an analysis comparing consumption indicators in the use of psychotropic drugs in a mental health institution in the department of Córdoba-Colombia. **Methodology.** Longitudinal, retrospective-cross-sectional study, drug use study (DUS) to compare consumption indicators such as defined daily dose (DDD), number of containers, considering the diagnosis and sociodemographic variables. **Results.** Population of 3,089 patients, where 48% presented a diagnosis of mental and behavioral disorder due to the use of psychoactive substances, 17% presented bipolar affective disorder and 15% paranoid schizophrenia, 70% male and 30% sex feminine. The most used medications were valproic acid in 250mg capsules, lithium carbonate in 300mg tablets and sertraline in 50mg tablets; The highest consumption was obtained by antidepressants with 45.77%, followed by antipsychotics with 23.19% and finally anticonvulsants with 22.39%. **Conclusion.** Differences were observed in the trend of the increase in the consumption of psychotropic drugs using as consumption indicators the defined daily dose (DDD) versus the number of containers in the years of study. This research differs from the results at the national and departmental levels in the sense that depression and other mental health problems are found to be more prevalent in men.

Keywords: Pharmaceutical Preparations (DeCS), Psychotropic Drugs (MesH), Medication Utilization (DeCS), Depression (DeCS), Bipolar Disorder (DeCS), Therapeutic Chemical Anatomical Classifications (ATC).

Introducción

La farmacoepidemiología es el estudio del uso y efectos de los medicamentos en grandes poblaciones la cual está dirigida en parte a los estudios de utilización de medicamentos (EUM); el objetivo de esta, es mejorar el uso adecuado de los mismos y conocer sus aspectos negativos dentro de una sociedad. “La OMS definió los estudios de utilización de medicamentos (EUM) como aquellos que se ocupan de ‘la comercialización, distribución, prescripción y uso de los medicamentos en una sociedad, con acento especial sobre consecuencias médicas, sociales y económicas resultantes’ (1).

Los psicofármacos, son un tipo de medicamento que se usan para tratar trastornos mentales. Estos medicamentos están especialmente diseñados para actuar sobre el sistema nervioso central (SNC), procesos mentales, emocionales y en la actividad psíquica. Estos derivados de los psicoactivos, se conoce que existe un uso inapropiado con fines placenteros en la sociedad (2). De allí, la necesidad de promover el buen uso de estos medicamentos mediante la educación y control de los profesionales de la salud. Los psicofármacos tienen varios subgrupos farmacológicos, los cuales son: ansiolíticos, antidepresivos, anticonvulsivantes, anticolinérgicos, antipsicóticos y antimaniacos (3).

Colombia para el período del 2009 al 2015 se registró 182.669 personas atendidas con

depresión moderada; en ese mismo periodo el departamento de Córdoba presentó 1.328 pacientes, representando el 0,72% de los casos. Según evidencia epidemiológica, el 30% de depresión moderada se vuelven crónicas, siendo el peor desenlace de depresión mayor el suicidio; de allí la necesidad de un uso terapéutico de ciertos medicamentos (4).

Teniendo en cuenta este uso, se estima que a nivel mundial cerca del 10% de la población sufre de enfermedades mentales. En Colombia existe un incremento de estas patologías desde el 2009, de modo que, para el año 2015 se diagnosticaron 36.584 casos de depresión moderada, 8.385 casos de depresión grave sin síntomas psicóticos, y 3.131 casos de depresión grave con síntomas psicóticos. Como resultado de esta situación se ha generado gran aumento del consumo de psicofármacos en el país (5).

Para obtener información referente a esta situación, se hace necesario realizar estudios usando indicadores de consumo que permitan determinar la correlación de los resultados, analizando indicadores como la dosis diaria definida DDD/100estancias/día, por unidades de envase, variables sociodemográficas como el sexo, edad, procedencia y patologías, para análisis estadístico. Para esto, la OMS ha estandarizado el concepto de dosis diaria definida como “la dosis de mantenimiento promedio asumida por día de un fármaco utilizado para su indicación principal en adultos” (6).

Pese a la poca información que se encuentra sobre el consumo de estos fármacos en el Departamento de Córdoba, la finalidad de este estudio es analizar el comportamiento sobre el uso de psicofármacos mediante datos estadísticos, expresados en indicadores de consumo de medicamentos, en el período 2012 a 2020 (7).

Materiales y métodos

Este estudio de utilización de medicamentos es de tipo longitudinal retrospectivo, realizado durante nueve años. La información se obtuvo de la base de datos y notas de cargo en el servicio farmacéutico de la IPS. Utilizando indicadores de consumo de medicamentos farmacoterapéuticos: DDD/100e/día, farmacoeconómicos: unidad de consumo envases Env/1000hab/Años y formas farmacéuticas, considerando las variables sociodemográficas de la población de interés, conformada por 3.089 pacientes hospitaliza-

dos en una IPS de salud mental del Departamento de Córdoba durante los años 2012 a 2020.

Se recolectaron los datos socio-demográfico (edad, sexo, procedencia, estrato socioeconómico), diagnósticos más relevantes y medicamentos más prescriptos. Los fármacos y los diagnósticos fueron agrupados según las clasificaciones anatómica terapéutica química (ATC) y la clasificación internacional de enfermedades CIE v10. Los medicamentos de uso sobre el sistema nervioso central y periférico corresponden al Grupo farmacológico N, el cual incluye: ansiolíticos, antidepresivos, antipsicóticos, anticonvulsivantes, antimaniacos y antiparkinsonianos. (8).

Toda la información se almacenó, procesó y analizó en Microsoft Excel. La información de la utilización de medicamento en DDD se presenta por 100 estancias/día de manera intrahospitalaria:

$$\frac{\text{DDD}}{100\text{estancia}} / \text{día} = \frac{\text{Nr0.de comprimidos} \times \text{peso de cada forma fctica} \times 100 \text{ estancia}}{\text{DDD} \times \text{número de camas} \times \text{índice ocupacional} \times 365}$$

El número de envases se obtuvo por el consumo anual por parte de los pacientes hospitalizados en la IPS. El indicador usado en este caso es el Número de envases por 1.000 habitantes y año (Env/1.000/año):

$$\frac{E n v}{1,000 hab} \text{ Año} = \frac{\text{Nro. de envases} \times 1,000}{\text{Nro. de habitantes}}$$

La utilización de psicofármacos por formas farmacéuticas se basó en las unidades posológicas prescritas en el período de estudio: tabletas, cápsulas, comprimidos.

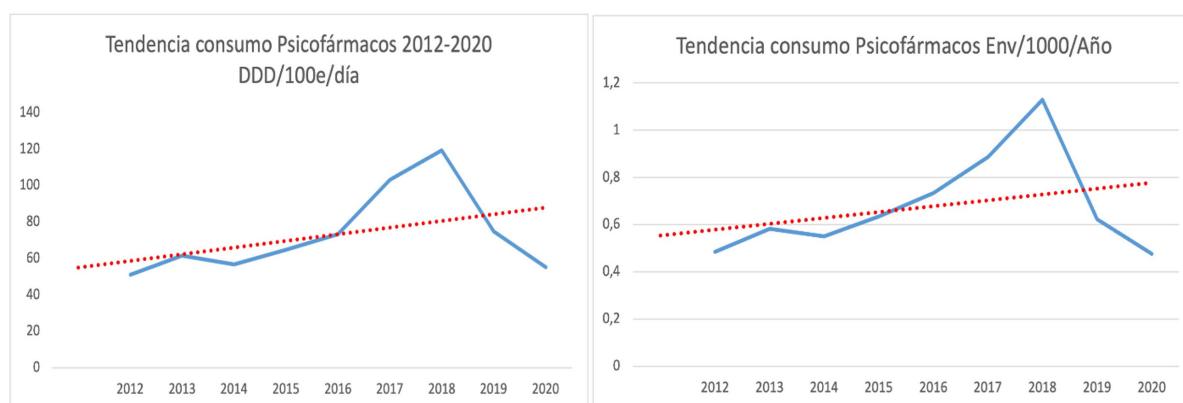
Resultados

La población de estudio conformada por 3.089 pacientes presentó una distribución por sexo del 70% población masculina

y 30% a la población femenina, siendo los hombres quienes presentan mayoritariamente problemas de salud mental, con un promedio de edad joven de 31 años. Se muestra el consumo de los medicamentos por forma farmacéutica más prescritos en los pacientes de la IPS de salud mental del año 2012-2020 con el siguiente comportamiento: el ácido valproico en cápsulas de 250 mg, carbonato de litio en tabletas de 300 mg y sertralina en tabletas de 50 mg; los menos consumidos fueron levomepromazina de 25mg en tabletas y olanzapina de 10 mg en tabletas.

En la Figura 1 se puede observar una tendencia en aumento de los psicofármacos utilizados por año, en el periodo de tiempo del estudio hasta 2019 con un incremento del 46,6% por formas farmacéuticas; con un decrecimiento en el 2020 del 0,86%, independientemente del indicador empleado. La pendiente de tendencia en la gráfica donde se utiliza el indicador DDD/100e/día es mayor que la pendiente cuando se usa el indicador Env/1000hab/año debido a la unidad de medida que es menor; sin embargo, no se evidencian marcadas diferencias.

Figura 1. Tendencia de la utilización de psicofármacos en dosis diaria definida DDD por 100 estancias y día Versus Número de envases por 1.000 habitantes y año en una población de 3,089 pacientes en un periodo de tiempo de nueve años: 2012 a 2020 en la IPS de estudio, en el Departamento de Córdoba – Colombia.



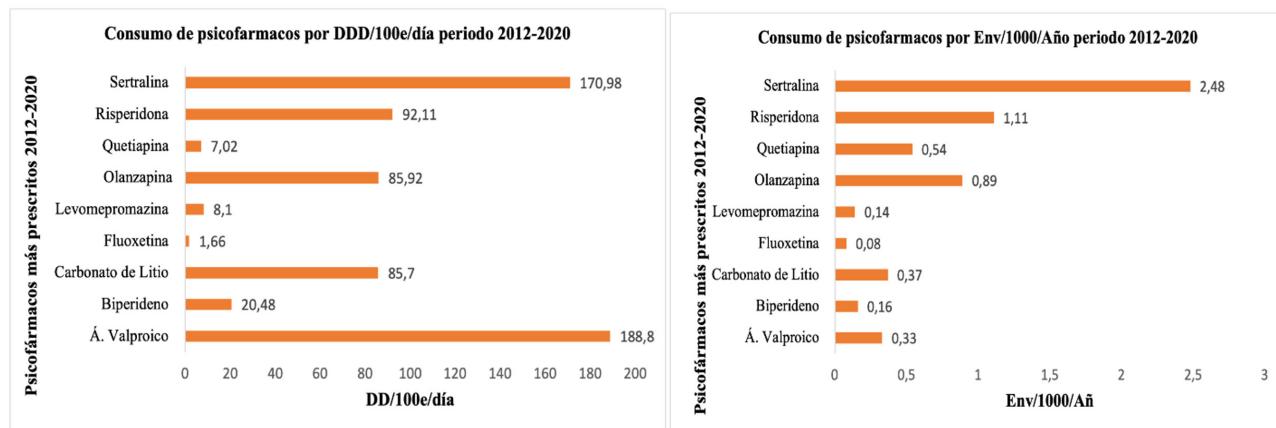
Fuente: Farmcoepidemiología de Psicofármacos en IPS de Salud Mental de Montería, Período 2012-2019. Código de Radicado: FCS-01-20, Vicerrectoría de Investigación Universidad de Córdoba, Autoría propia.

En la figura 2 se observa un contraste en la proporción de utilización de algunos psicofármacos, como es el caso para ácido valproico y carbonato de litio cuando se comparan con los dos indicadores de utilización. Este comportamiento se debe en gran medida al tamaño de la unidad de venta de estos psi-

cófármacos, ya que el ácido valproico que adquiere la IPS del estudio, viene por caja de 500 unidades posológicas o capsulas de 250 mg, lo mismo sucede con el carbonato de litio que viene en presentación de cajas por 100 tabletas de 300 mg cada una.

La información obtenida para la realización del procesamiento de los datos en la hoja de cálculo del programa Microsoft Excel permitió realizar un análisis comparativo en función a los indicadores de consumo propuestos en el estudio como son: consumo de la DDD/100e/día, número de Env/1000hab/Año y formas farmacéuticas, por psicofármacos más prescritos en la IPS de Salud Mental.

Figura 2. Utilización de psicofármacos más prescritos por DDD/100e/día Versus Env/1000/Año en IPS de Salud Mental de Montería, periodo 2012-2020.

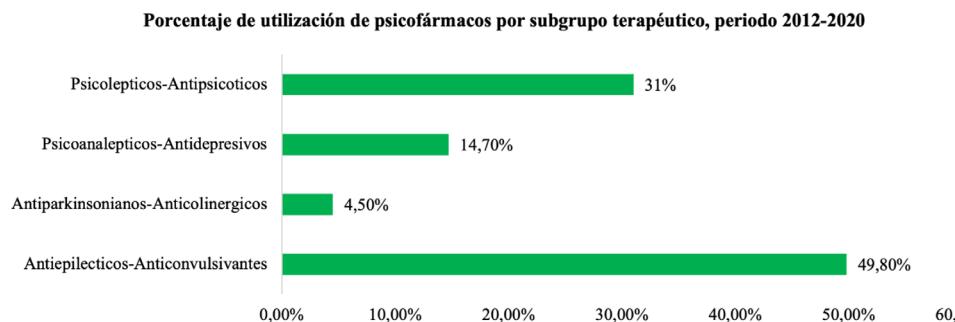


Fuente: Farmcoepidemiología de Psicofármacos en IPS de Salud Mental de Montería, Período 2012-2019. Código de Radicado: FCS-01-20, Vicerrectoría de Investigación Universidad de Córdoba, Autoría propia.

Se obtuvieron datos de utilización significativos de los psicofármacos más prescritos en la IPS, que permitieron observar y comprender la variabilidad de las fluctuaciones que se evidenciaron durante el seguimiento. Se observó que la flouxetina de 20 mg obtuvo el consumo en DDD/100e/día más bajo con 1,66, seguida por la quetiapina de 25 mg con 7,02 y la levomepromazina de 25 mg con 8,1 DDD100/estancias/día, mientras que el promedio más alto lo presentó el ácido valproico de 250 mg con 188,8 DDD/100e/día.

Los datos obtenidos en el seguimiento por utilización de envases, en el periodo de estudio, nos permitieron evidenciar algunas similitudes y diferencias con el indicador anterior. Se observa que la fluoxetina de 20 mg obtuvo la utilización más bajo con 0,08 Env/1000hab/Año, seguida por la levomepromazina de 25 mg con 0,14, el biperideno de 2 mg con 0,16 y por último el ácido valproico de 250 mg con 0,33 Env/1000/Año, lo cual contrasta con el indicador DDD/100e/día para este medicamento que fue, como se mencionó anteriormente de 188,8 (Figura 2).

Figura 3. Porcentaje de utilización de psicofármacos por subgrupos terapéuticos en formas farmacéuticas periodo 2012-2020.

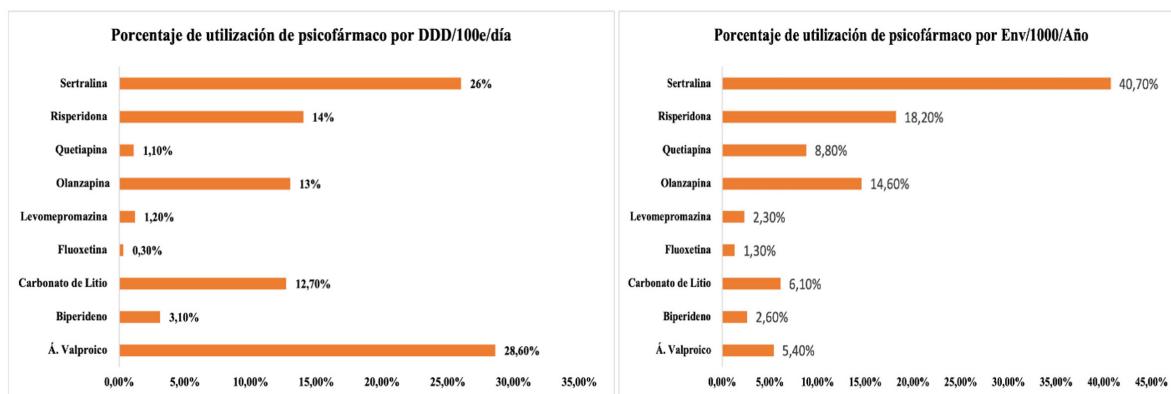


Fuente: Farmcoepidemiología de Psicofármacos en IPS de Salud Mental de Montería, Período 2012-2019. Código de Radicado: FCS-01-20, Vicerrectoría de Investigación Universidad de Córdoba, Autoría propia.

Al evaluar el porcentaje de utilización de psicofármacos por subgrupos terapéuticos, se observó el siguiente comportamiento: el menor consumo lo obtuvieron los antiparkinsonianos-anticolinérgicos (biperideno) con 4,5% seguido por los psicoanalépticos-antidepresivos (sertralina y fluoxetina)

con 14,7%, mientras que el mayor consumo lo obtuvieron los antiepilepticos-anticonvulsivantes (ácido valproico) con 49,8%, seguido por los psicolepticos-antipsicoticos (carbonato de litio, risperidona, quetiapina, entre otros) con 31% (Figura 3).

Figura 4. Porcentaje de utilización de psicofármacos por indicadores DDD/100e/día Versus Env/1000hab/año en el periodo de estudio 2012-2020.



Fuente: Farmcoepidemiología de Psicofármacos en IPS de Salud Mental de Montería, Período 2012-2019. Código de Radicado: FCS-01-20, Vicerrectoría de Investigación Universidad de Córdoba, Autoría propia.

En la figura 4 se demuestra de manera más fácil el contraste en la utilización de psicofármacos en la IPS en el período de estudio, dado que se llevaron las unidades de medición en indicadores DDD/100estancia/día y Env/1000habitantes/año a medida relativa: porcentaje. Observándose lo siguiente:

Mayor contraste entre los psicofármacos sertralina 26% DDD/100e/día Vs, 40,7% Env/1000/Año; quetiapina 1,1% DDD/100e/día Vs. 8,8% Env/1000/Año; fluoxetina 0,3% DDD/100e/día Vs 1,3% Env/1000/Año; carbonato de litio 12,7% DDD/100e/día Vs 6,10% Env/1000/Año y acido valproico 28,6% DDD/100e/día Vs 5,4% Env/1000/Año.

Diagnóstico de salud mental prevalentes en la IPS de estudio

De los 3.089 pacientes hospitalizados en la IPS el 48% presentó diagnóstico de trastorno mental y del comportamiento por el consumo de sustancias psicoactivas, el 17% trastorno efectivo bipolar y el 15% esquizofrenia paranoide.

El Sistema Integral de Información de la Protección Social (SISPRO) reporta el incremento de las atenciones por depresión (CIE 10, F32.1, F32.2 y F32.3), trastorno afectivo bipolar y trastorno depresivo grave en el período de 2009 a 2015, observándose su mayor prevalencia en los grupos de edad que oscilan entre los 50-54 años y de estas

un 70% fueron mujeres. En la Encuesta Nacional de Salud Mental 2015 (ENSM) para la depresión grave con síntomas psicóticos se presentaron dos picos de frecuencia alta, en los grupos de edades de 20 a 24 años y de 50 a 54 años (9).

La depresión grave con síntomas psicóticos (CIE 10 F32.3) representa entre el 6 y el 13% de las consultas por depresión en Colombia. Estos resultados a nivel nacional revelados ENSM, no son diferentes a lo observado en el Departamento de Córdoba y en la IPS de estudio durante 2012–2020, salvo algunas consideraciones como la edad y el sexo en el diagnóstico: F30-F39: Trastornos del humor (afectivo), siendo diferentes para la población de estudio, la depresión considerada en edades promedio de los 15 y 34 años y en un mayor porcentaje en hombres 56%.

Discusion

El uso de psicofármacos en todo el mundo varía de acuerdo con la región. Sin embargo, la tendencia en el mundo por consumo de medicamentos para los trastornos de ansiedad, trastornos depresivos y otros trastornos mentales comunes va en aumento. Se estima que 322 y 264 millones de personas en todo el mundo padecen depresión y ansiedad correspondiente a un 4,4% y 3,6% de la población global (8). En La Unión Europa EU, Estados Unidos de América USA y en América Latina AL, la prescripción y el consumo de psicofármacos van en aumento (10).

Además, en el país no existe guía de práctica clínica para el uso de estos medicamentos antidepresivos. En la población de estudio el consumo por DDD/100e/día de psicolépticos-antipsicóticos es el mayor y, el menos utilizado fueron los antiparkinsoniano-anticolinérgicos conincidiendo con la unidad de utilización Env/1000hab/año. Medicamentos como el Biperideno no siendo un antipsicótico o psicofármaco, se considera por los investigadores es prescrito por los profesionales de esta área de la salud debido a que sirven para prevenir los síntomas extrapiramidales inducido por estos medicamentos. Los anticolinérgicos al ser asociados con medicamentos tipo antipsicóticos evitan los efectos adversos (11).

Por otra parte, el ácido valproico, aunque es un anticonvulsivante y no un antipsicótico, es utilizado por los psiquiatras fuera de indicación (off-label), con el fin de reducir en el transcurrir del tiempo la dosis de los antipsicóticos, permitiendo estabilidad del humor y control de la agresividad. Actualmente se utiliza como coadyuvante en tratamientos como esquizofrenia, trastorno de stress postraumático y trastornos bipolares (11). El uso de estos medicamentos se ve reflejado en la guía emanada por el Ministerio de Salud titulado “Mejorar la seguridad en la utilización de medicamentos” (12).

En el estudio de los subgrupos terapéuticos por indicadores DDD/100e/día y Env/1000hab/año el mayor consumo lo pre-

sentan los psicolépticos-antipsicóticos, lo cual difiere con el resultado obtenido por el “Ministerio de Sanidad de España en el año 2020” donde prevaleció el subgrupo de los antidepresivos (13). Los jóvenes colombianos en el informe del SIVIGILA reportó en 2017, que el 62,7% de los casos de intento de suicidio eran del sexo femenino y 37,3% del masculino. El 29,7% se presentaron en el grupo de 15 a 19 años (48,5% de 15 a 24 años).

Según Machado & Echeverri (14), en el artículo titulado “Utilización de medicamentos antidepresivos en población adolescente de Colombia: un estudio tipo prescripción-indicación”, concluyen que la prescripción de los fármacos antidepresivos en pacientes adolescentes colombianos se está haciendo en especial con fluoxetina, sertralina y trazodona, principalmente para indicaciones no aprobadas.

Se puede inferir, que la utilización de psicofármacos en los hombres es mayor que en las mujeres, reflejándose que los hombres padecen más de enfermedades de salud mental. Lo anterior, coincide con el informe publicado por la OEA, sobre el consumo de drogas en las Américas en el año 2019, donde se evidenció que los tranquilizantes consumidos sin prescripción médica tienen mayor consumo en mujeres, siendo la excepción en Bolivia y Colombia, países donde prevalece más el consumo de psicofármacos por los hombres (15).

Se demuestra que el 48% sufre de trastorno mental y del comportamiento por el consumo de sustancias psicoactivas, seguida del Trastornos del humor (afectivo) CIE-10 F-30 al F-39, en la que se integran enfermedades como: trastorno afectivo bipolar, trastorno depresivo grave con síntomas psicóticos y el episodio depresivo, sumando una prevalencia del 27% (16).

Los resultados de la ENSM(Escuela Normal Superior de México) , no son diferentes a lo observado en el Departamento de Córdoba y en la IPS del estudio para el mismo período, salvo las variables de edad y sexo del diagnóstico Trastorno del humor (afectivo), dado que para cualquier tipo de depresión considerada, la edad promedio osciló entre los 15 y 34 años y en un mayor porcentaje en hombres 56%, siendo diferente a la información Nacional referenciada anteriormente (17, 18).

Referencias

1. Álvarez Luna F. Farmacoepidemiología. Estudios de Utilización de Medicamentos. Parte I: Concepto y metodología. Seguim Farmacoter 2004; 2(3): 129-136.
2. Gómez O., Leobardo Manuel Farmacoepidemiología como una herramienta importante del uso racional de los medicamentos Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 38, núm. 1, 2007, pp. 42-48 Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C. Distrito Federal, México
3. Giraudo E, Nr A, Peruzzi R, Al B, Mg C, Cp C. Consumo de psicofármacos en pacientes ambulatorios en un Hospital de Mendoza, Argentina. Rev. OFIL-ILAPHAR 2021, 31;2:149-153
4. Fajardo Zapata, Á.L. Consumo de psicofármacos en la ciudad de Bogotá D.C. (Colombia): una nueva realidad Archivos de Medicina (Col), vol. 18, núm. 2, 2018. Nov 19,18(2):404-412.Universidad de Manizales, Colombia.
5. WHO Colaborating Centre for Drug Statistics Methodology. ATC/DDD Index 2010. Oslo: Norwegian Institute of Publ Health; 2009. Disponible en: http://www.who.int/medicines/ATC/DDD_Index_2010.pdf Acceso el 25 de septiembre de 2018.
6. Fridman Gerardo Abraham. Uso de Psicofármacos en la Región del Noreste Argentino durante la década de 2004-2013. Ars Pharm [Internet]. 2018 Sep [citado 2021 Ago 17]; 59 (3):113-120. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S234098942018000300113&lng=es. Epub 19-Oct-2020. <https://dx.doi.org/10.30827/ars.v59i3.7226>.
7. Arias Rodas MG, Archila M, Moisa de Orozco, Marta Eugenia, Anastasio M. Asignación diagnóstica del CIE-10 entre psicólogos en un hospital salvadoreño. Alerta, Revista científica del Instituto Nacional de Salud 2020 Jul 29;3(2).
8. Organización Mundial de la Salud. Depresión y otros trastornos mentales comunes. Estimaciones sanitarias mundiales. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2017. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
9. Institute of Psychiatry, King's College London. Alzheimer's Disease International. The benefits of early diagnosis and intervention. World Alzheimer Report 2011 [consultado 15 Ene 2014]. Disponible en: <http://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2011>
10. Organización Panamericana de la Salud "Tratamiento farmacológico de los trastornos mentales en la atención primaria de salud" Washington, D.C.: OPS, © 2010 ISBN: 978-92-75-33113-2) "Pharmacological treatment of mental disorders in primary health care" © World Health Organization, 2009 ISBN 978 92 4 154769 7.
11. L. Hernández, K. Marín. Drug interactions of old antiepileptic drugs with antidepressants and antipsychotics. Repertorio de Medicina y Cirugía. Volume 26, Issue 2, April–June 2017, Pages 78-84.

12. Ministerio de la Protección Social. Mejorar la seguridad en la utilización. De medicamentos, Buenas prácticas para la seguridad del paciente en la atención en salud, citado en: [Septiembre, 2020]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/Documents/CalidadAtenci%C3%B3nEnSalud/Observatorio/SEGURIDAD%20MEDICAMENTOS/TOS.pdf>
13. Ministerio de Sanidad España. Datos de Salud Mental. Documento para información general. Citado en: [junio del 2020]. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/saludMental/home.htm> 2020, diciembre.
14. Machado-Duque, Manuel Enrique; Echeverri-Chabur, Jorge Enrique and Machado-Alba, Jorge Enrique. Utilización de medicamentos antidepresivos en población adolescente de Colombia: un estudio tipo prescripción-indicación. Rev. Cienc. Salud [online]. 2017, vol.15, n.3, pp.387-396. ISSN 1692-7273. Disponible en: <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.6122>.
15. Comisión Interamericana para el Control del Abuso de Drogas (CICAD) Secretaría de Seguridad Multidimensional (SSM) Organización de los Estados Americanos (OEA). Inter-American Drug Abuse Control Commission. Informe sobre el consumo de drogas en las Américas, 2019 / Comisión Interamericana para el Control del Abuso de Drogas. p; cm. (OAS. Documentos oficiales; OEA/Ser.L) ISBN 978-0-8270-6794-3.
16. Ministerio de Salud y Protección Social y Colciencias. Guía de Práctica Clínica, Detección temprana y diagnóstico del episodio depresivo y trastorno depresivo recurrente en adultos. Atención integral de los adultos con diagnóstico de episodio depresivo o trastorno depresivo recurrente. Bogotá, 2013.
17. Observatorio Nacional de Salud Mental. Subdirección de Enfermedades No Transmisibles Grupo Funcional: Gestión Integrada para la Salud Mental. 2017, citado en: [Agosto 08 del 2021], disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/lists/bibliotecadigital/ride/vs/ed/gcfi/guia-ross-salud-mental.pdf>.
18. Ministerio de Salud. Guía Técnica de Buenas prácticas para la seguridad del paciente en atención en salud, 2020. Citado en: [agosto 08 del 2021]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/Documents/CalidadAtenci%C3%B3nEnSalud/Observatorio/SEGURIDAD%20MEDICAMENTOS.pdf>.

Fisiopatología y alteraciones clínicas de la diabetes mellitus tipo 2: revisión de literatura

Physiopathology and clinical alterations of diabetes mellitus 2: literature review

Cristhian Ignacio Jerez Fernández¹, Yerko Alexis Medina Pereira², Amanda Sofía Ortiz Chang³, Simón Ignacio González Olmedo⁴, Melany Candy Aguirre Gaete⁵

Resumen

La diabetes mellitus tipo 2 constituye una condición clínica debilitante, degenerativa y multifacética de alta prevalencia a nivel mundial. Dada la complejidad de su fisiopatología y las variadas opciones terapéuticas que existen esta enfermedad presenta un desafío para el médico general, se hace imperativo describir comprensiblemente esta patología para mejorar la resolutividad de ésta en atención primaria. Tras una búsqueda bibliográfica exhaustiva de 103 estudios publicados hasta el año 2010, se identificaron los aspectos más importantes tanto de la fisiología, fisiopatología, complicaciones y terapéuticas de esta patología. La resistencia a la insulina (RI) es una condición metabólica central en la etiopatogenia de esta patología donde se logra reconocer de manera clásica tanto la pérdida de la acción periférica de la insulina por parte de los diferentes tejidos, así como defectos en la secreción de insulina conllevando estados de hiperglucemia constantes asociados tanto a complicaciones agudas como crónicas caracterizadas por provocar disfunción y fallo en diferentes órganos. Es de conocimiento general que parte importante de los resultados en el manejo de esta patología se logran con cambios en el estilo de vida que van desde modificaciones en la

1. Médico Internista Hospital Barros Luco Trudeau, Docente Fisiopatología y Medicina Interna Universidad del Alba, Santiago de Chile
Correo electrónico: cristhian.jerez@aa.udalba.cl
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8473-8616>

2. Facultad de medicina, Universidad del Alba, Santiago de Chile.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2115-5648>

3. Facultad de medicina, Universidad del Alba, Santiago de Chile.
Correo electrónico: asortiz@udalba.cl
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4810-172X>

4. Facultad de medicina, Universidad del Alba, Santiago de Chile.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3886-5371>

5. Facultad de medicina, Universidad del Alba, Santiago de Chile
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8880-2806>

Correo electrónico de correspondencia: cristhian.jerez@aa.udalba.cl
Dirección postal: 8900000 Número de teléfono: +56982564051

dieta a cambios en el patrón de actividad física con pérdida de peso corporal. No obstante, existe a su vez una amplia gama de terapias farmacológicas orientadas a controlar estados hiperglucémicos ante la falla de la terapia no farmacológica. Dentro de este mismo contexto varias son las dianas y objetivos terapéuticos en el tratamiento del diabético tipo 2, sin embargo, todas confluyen en el control metabólico de los estados de hiperglucemia y la prevención de sus complicaciones.

Palabras claves: control glucémico, diabetes mellitus, diabetes mellitus tipo 2, resistencia a la insulina, secreción de insulina y complicaciones de la diabetes.

Abstract

Type 2 diabetes mellitus is a debilitating, degenerative and multifaceted clinical condition with a high prevalence worldwide. Given the complexity of its pathophysiology and the various therapeutic options that exist, this disease presents a challenge for the general practitioner, it is imperative to understand this pathology to improve its resolution in primary care. After an exhaustive bibliographic search of 103 studies published up to 2010, the most important aspects of both the physiology, pathophysiology, complications, and therapeutics of this pathology were identified. Insulin resistance (IR) is a central metabolic condition in the etiopathogenesis of this pathology. Classically it is possible to recognize both the loss of the peripheral action of insulin by the different tissues as well as defects in the secretion of insulin that leads to constant hyperglycemic states associated with both acute and chronic complications characterized by causing dysfunction and failure in different organs. It is generally known that an important part of the results in the management of this pathology are achieved with changes in lifestyle that range from modifications in diet to changes in the pattern of physical activity with loss of body weight. However, there also is a wide range of pharmacological therapies aimed at controlling hyperglycemic states in the event of the failure of non-pharmacological therapy. Within this same context, there are several therapeutic targets and objectives in the treatment of type 2 diabetics, however, they all converge in the metabolic control of hyperglycemic states and the prevention of their complications.

Keywords: glycemic control, diabetes mellitus, diabetes mellitus type 2, insulin resistance, insulin secretion and diabetes complications.

Introducción

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de alteraciones metabólicas que se caracteriza por hiperglucemia crónica, debida a un defecto en la secreción de la insulina, a un defecto en la acción de ésta, o a ambas. Los factores determinantes de la enfermedad son variados e interactúan entre sí, influyen factores como, el estilo de vida del paciente, el entorno físico y sociocultural, la genética y epigenética (1).

Según la Federación Internacional de Diabetes (FID), en 2019, la DM causó 4,2 millones de muertes; y 463 millones de adultos de entre 20 y 79 años vivían con diabetes, un número que probablemente aumentará a 700 millones en 2045. Los pacientes con diabetes mellitus 2 (DM2) tienen un 15% más de riesgo de mortalidad por todas las causas en comparación con las personas sin diabetes y la enfermedad cardiovascular (ECV) es la principal causa de morbilidad y mortalidad asociada con la DM2 (2).

En esta revisión se abordará la DM2 desde un enfoque fisiopatológico con un énfasis especial para su abordaje por el médico general, incluyendo un breve recuerdo fisiológico del metabolismo de la glucosa y la insulina, para luego entrar de lleno en la etiología de la enfermedad, sus mecanismos de generación, las complicaciones de esta y su tratamiento. Debido a que la DM2 es una enfermedad muy prevalente en nuestro medio, en el año 2017 la prevalencia era del

10% en la población chilena y en 2019 fue causa directa de 1,5 millones de defunciones a nivel mundial, por lo que se hace importante conocer estos aspectos para lograr un buen manejo de ella.

Metodología de búsqueda

Para la realización del presente trabajo se siguieron los principios propuestos por la declaración PRISMA. Se incluyeron trabajos asociados a la fisiopatología de la DM2, los cuales fueron seleccionados mediante la lectura del título y del resumen para identificar si eran adecuados, a las publicaciones seleccionadas se realizó una revisión completa y posteriormente se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión. Los estudios que cumplían con criterios de exclusión no fueron utilizados para garantizar la calidad de la revisión y minimizar el riesgo de sesgo.

Se utilizaron los siguientes sistemas para la búsqueda de artículos: pubmed, Google scholar, scielo; y las palabras clave utilizadas fueron: fisiopatología de diabetes mellitus tipo 2, fisiopatología de la resistencia a la insulina, fisiopatología del daño a las células beta pancreáticas, metabolismo de los carbohidratos, complicaciones macro y micro estructurales de la diabetes, bases del tratamiento de la diabetes. De las fuentes encontradas fueron utilizados para la redacción de este artículo metaanálisis, revisiones y ensayos clínicos con antigüedad máxima hasta el 2010, con más de 30 citas, tanto en

inglés como en español, sin limitación geográfica, excluyendo aquellos sin resultados objetivos y estudios no publicados.

El resultado del proceso de búsqueda realizado por los autores permitió seleccionar 103 artículos que cumplieron con los criterios de selección y que incluyeran las palabras clave en sus respectivos resúmenes, permitiendo identificar la fisiología asociada a las DM2, su fisiopatología, complicaciones y terapias.

Resultados

Fisiología

Metabolismo de los carbohidratos

Durante la glucólisis, se captura una cantidad pequeña de energía al convertir una molécula de glucosa en dos moléculas de piruvato. El glucógeno, una forma de almacenamiento de glucosa, se sintetiza por glucogénesis cuando la concentración de glucosa es alta y se degrada por glucogenólisis cuando el aporte de glucosa es insuficiente. La glucosa también puede sintetizarse a partir de precursores distintos de los carbohidratos por medio de una reacción denominada gluconeogénesis comandada por los efectos del glucagón en donde se emplean diferentes elementos para la síntesis de esta. Así mismo su contraposición; la insulina permite generar almacenamiento y regularización de estados elevados de glucosa a nivel cor-

poral. La vía de las pentosas fosfato permite a las células transformar glucosa-6-fosfato, un derivado de la glucosa, en ribosa-5-fosfato (un azúcar que se emplea para la síntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos) y en otras clases de monosacáridos; en esta vía también se lleva a cabo la producción de NADPH (fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido), conocido por ser un agente reductor importante (3,4).

Liberación de insulina

La glucosa actúa como el estimulante fisiológico predilecto para la liberación de insulina. La entrada de glucosa hacia las células β pancreáticas es mediada por transportadores de glucosa, que facilitan un correcto transporte bidireccional de glucosa, generando un equilibrio entre las concentraciones de glucosa extracelular e intracelular. El metabolismo intracelular de la glucosa gatilla la secreción de insulina. La glucocinasa, controla el primer paso en el metabolismo de la glucosa y con ello el inicio de las posteriores cascadas celulares mediante la fosforilación de glucosa para formar glucosa-6fosfato. La glucólisis origina un aumento del trifosfato de adenosina (ATP), que es detectado por la subunidad del receptor de sulfonilurea de los canales de K+ dependientes de ATP (KATP) en la membrana de las células β , lo cual resulta en un cierre del canal. La despolarización celular resultante permite que entre Ca²⁺, lo cual desencadena exocitosis de gránulos que contienen insulina. Además,

parte importante de la secreción de insulina en respuesta a la ingesta oral puede atribuirse a hormonas entéricas (5,6).

Receptores GLUT

Los receptores GLUT son transportadores encargados del ingreso de monosacáridos a las células del organismo. Actúan por difusión facilitada y están distribuidos diferencialmente en el organismo. Se han descrito 14 receptores GLUT, con características estructurales comunes (7). La glucosa ingresa a la célula en cuatro etapas: 1) Se une al transportador en la cara externa de la membrana 2) El transportador cambia de conformación y la glucosa y su sitio de unión quedan localizados en la cara interna de la membrana 3) El transportador libera la glucosa al citoplasma 4) El transportador libre cambia nuevamente de conformación y expone el sitio de unión a la glucosa (7).

Los receptores GLUT 4 y GLUT 12 son dependientes de la insulina. El receptor GLUT-4 se expresa en tejidos sensibles a insulina (músculo esquelético, cardiaco y tejido adiposo), se encuentra en vesículas citoplasmáticas y es translocado a la membrana celular mediante exocitosis con el estímulo de la insulina y del ejercicio (vía AMP kinasa) para la captación de glucosa. El depósito de diacilglicerol y ceramidas en músculo esquelético y tejido adiposo, y el exceso de glucógeno intracelular del músculo esquelético altera la translocación de GLUT4, por

una fosforilación en residuos de serina, en vez de tirosina del receptor de insulina y produce un estado inflamatorio que conduce a la resistencia a la insulina (7). El receptor GLUT 2 se expresa en las células beta pancreáticas y en menor medida en el intestino delgado y el riñón. Tiene baja afinidad por la glucosa lo que le permite actuar como glucosensor, solo permite la entrada de glucosa cuando está lo suficientemente elevada en plasma como para requerir la liberación de una cantidad significativamente importante de insulina (7).

Interacción intestino páncreas

Las incretinas son hormonas intestinales que se liberan en respuesta a la ingesta de nutrientes. Hay dos principales, el péptido similar al glucagón-1 y el péptido insulíntrópico dependiente de glucosa (GIP). El GLP-1 es producido por las células L, en todo el intestino, pero aumentan en abundancia en el íleon y el colon, el GIP es producido por las células K, que residen principalmente en el duodeno y el yeyuno superior (8, 9).

Tanto GIP como GLP-1 estimula todas las fases de secreción de insulina, incluyendo un aumento en la actividad de glucocinasa (GK), así como de la translocación de los canales GLUT2 a través de cascadas de señalización por vía adenilato ciclase que lleva a un aumento de las concentraciones intracelulares de calcio y AMPc, lo que pro-

voca una rápida exocitosis de moléculas de insulina sintetizadas previamente. La persistencia del estímulo activa una segunda vía enzimática PKA que estimula la transcripción del gen de insulina para su síntesis de novo e incluso la proliferación de más células beta. GLP-1 ocasiona un aumento en la sensibilidad a la glucosa de las células alfa y beta, estimula la secreción de insulina solo en caso de hiperglucemia, disminuye la glucosa plasmática posprandial y en ayunas, inhibe la secreción de glucagón. Estos procesos se encuentran acoplados a la acción de la glucoquinasa, lo que explica que requieran de niveles elevados de glucosa para funcionar. El efecto incretina está reducido severamente (o tal vez ausente) en los pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 (8,9,10).

Control renal de la glucosa

Las células renales poseen dos tipos de transportadores principales implicados en la manipulación de glucosa, estos son los SGLT (TIPO 1 Y TIPO 2). Estos transportadores proporcionan una absorción casi total de la glucosa a nivel de nefrón excretando <1% en la orina. Esta reabsorción se realiza mediante cotransportadores Na/glucosa (SGLT) de los cuales hay dos tipos principales. El SGLT2 es el encargado de reabsorber el 90% de la glucosa, este transportador se localiza en el túbulito contorneante proximal (TCP) y es definido como un cotransportador de baja afinidad, pero alta

capacidad de reabsorción, por otro lado, tenemos al transportador SGLT1 encargado de la fracción restante de reabsorción, este es un cotransportador de alta afinidad–baja capacidad de reabsorción también ubicado en el TCP. Se estima que el adulto sano promedio tiene una capacidad máxima de reabsorción de 352-375 mg/min, no así los pacientes diabéticos que presentan una capacidad máxima de reabsorción que se incrementa hasta 419 mg/min, debido a un efecto compensatorio disparado por el aumento en la disponibilidad de glucosa que incrementa la expresión de contratransportadores en el túbulito proximal (11,12). La glucosuria aparece cuando la adaptación no es suficiente para compensar las concentraciones plasmáticas, llegando a una capacidad máxima de reabsorción del túbulito proximal (12).

Fisiopatología de la diabetes tipo 2

La DM históricamente se ha dividido en DM1 y DM2, ambas con diferencias fundamentales en sus mecanismos causales, siendo la DM1 una enfermedad principalmente autoinmune central donde se destruyen selectivamente las células beta pancreáticas productoras de insulina generando un cese en su producción, por otra parte en la DM2 hay dos mecanismos fundamentales en su generación, la resistencia a la insulina (RI) y la posterior y progresiva disfunción de la célula beta, en los cuales interactúan múltiples vías de señalización de diferentes ór-

ganos, que debido a factores tanto externos como internos se ven alteradas, dichas alteraciones serán abordadas a continuación.

Resistencia a la insulina

La RI es una condición en donde las células diana de la insulina no responden de forma adecuada a ella, lo que reduce la incorporación de glucosa en el tejido muscular y adiposo. Se debe a una falla en la vía de la señalización de la insulina, que puede estar dada por mutaciones o modificaciones postraduccionales del receptor o de las IRS (sustrato del receptor de insulina) o de moléculas río abajo en la vía de señalización (13).

La unión de la insulina a la subunidad α del receptor de insulina (IR) genera cambios conformacionales que inducen su activación catalítica y la autofosforilación de varios residuos de Tyr, estos residuos son reconocidos por las IRS que organizan la formación de complejos moleculares y desencadena cascadas de señalización intracelular; la vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K)/Akt responsable de la mayoría de sus acciones metabólicas y la vía de las cinasas activadas por mitógeno/Ras (MAPK/Ras), que regula la expresión genética y los efectos mitogénicos asociados a la insulina (13, 14).

La señalización hepática de insulina puede establecer el tono transcripcional de enzimas gluconeogénicas y determinar la ca-

pacidad gluconeogénica del hígado, pero la habilidad de la insulina de regular agudamente gluconeogénesis hepática ocurre mayormente por un mecanismo indirecto a través de la inhibición de la lipólisis del tejido adiposo. La acción de la insulina en el músculo esquelético activa Akt2, la activación de Akt2 lleva a la fosforilación e inactivación de dos RabGTOasas, el sustrato de Akt de 160 kDa (TBC1D1), que aumenta el tráfico de las vesículas que contienen el transportador de glucosa tipo 4, a la membrana plasmática, el transporte celular de glucosa y la síntesis de glicógeno. Mecanismos independientes de la glucosa también activan su captación muscular. La contracción muscular activa AMPL que fosforila proteínas que regulan la translocación de GSV (vesícula intracelular que contiene GLUT-4). La activación de AMPK es uno de los muchos factores que componen una rama de señales que promueve la captación de glucosa en respuesta al ejercicio, independiente de la acción de la insulina (15).

Las causas más comunes de RI son disminución en el número de IR y su actividad catalítica, aumento de la fosforilación de residuos Ser/Thr del IR y las IRS, aumento en la actividad de fosfatasas de residuos Tyr, disminución de la actividad de cinasas PI2K y Akt y defectos en la expresión y función de GLUT-4. También se ha asociado el estrés de retículo y a la disfunción mitocondrial. (16). En los pacientes obesos el tejido adiposo libera mucha más canti-

dad de adipocinas como el TNF-alfa, IL-6 y la resistina implicadas en la resistencia a la insulina, es importante recordar que el tejido adiposo no solo contiene adipocitos, sino que también preadipocitos/macrófagos, leucocitos y otras células, en el tejido adiposo del obeso existe una sobre población de estos tipos celulares que se encargan de la respuesta inflamatoria exacerbada y sostenida. El TNF-alfa es capaz de inducir un defecto en la fosforilación de los residuos de Tyr del IRS-1 y además disminuye la expresión génica de los GLUT-4 (figura 1). Adicionalmente, estas sustancias estimulan la lipasa sensible a hormonas que lleva a la lipólisis de los triglicéridos del tejido adiposo aumentando la liberación de ácidos grasos libres del adipocito (17).

En una segunda etapa, el músculo y el hígado reciben este exceso de ácidos grasos libres (AGL) los cuales se depositan produciendo lipotoxicidad, se produce un aumento en las concentraciones de acil-CoA de cadena larga que cuando se convierte en diacilglicerol (DAG) activa isoformas de proteína cinasa C que alteran la fosforilación del IRS-1 y de PI3K, lo que impide la translocación del GLUT4 a la membrana (17).

Daño y muerte celular en Células Beta pancreáticas en diabetes tipo 2

Daño inducido por leptina y resistina: El incremento de leptina tiene la capacidad de inducir apoptosis en las células β dado que

inhibe la síntesis de insulina, incrementa reacciones de tipo inflamatorias y genera estrés oxidativo. La resistina es otra molécula liberada desde el tejido adiposo que posee la capacidad de generar aumento de citocinas como la IL-6 y TNF al activar el NF κ B, su contraposición, la adiponectina es un agente antiinflamatorio que mediante supresión de fosforilación de I κ B produce inactivación de NF κ B. En general, la perdida en el equilibrio en la concentración local y sistémica de citocinas deletéreas y elementos protectores de la función de las células β conllevan a la muerte celular de estas (figura 1) (18).

Lipotoxicidad: En pacientes diabéticos no controlados se puede ver una rápida movilización de triglicéridos que conduce a un aumento de los niveles de AGL (19). Las células β responden de manera bifásica a la acumulación anormal de lípidos, inicialmente en los islotes comienza una proliferación de las células β y aumenta la masa de estas, junto al incremento de la secreción de insulina; esta serie de cambios en un estadio inicial provee la producción de insulina suficiente para mantener la glucemia en parámetros normales. En estadios más avanzados el incremento de AG produce lipotoxicidad mediante la formación de ceramidas, que se encargan de activar mecanismos de muerte celular mediante la liberación del citocromo C de la mitocondria, que activa las caspasas responsables de la apoptosis de las células β y, en consecuencia, disminución en la se-

creción de insulina y con ello también la incapacidad de mantener una glucemia controlada (20).

Glucotoxicidad: La glucotoxicidad está asociada sobre todo a la hiperglucemia de carácter postprandial y es consecuencia de un aumento en la entrada de glucosa vía GLUT-2 a las células β . Este exceso de glu-

cosa intracelular produce una disminución en la síntesis y secreción de insulina reduciendo las posibilidades de hiperinsulinemia compensatoria, al aumentar la glicosilación de proteínas como las del retículo endoplásmico y la producción de radicales libres de oxígeno que generan un efecto de autoxidación de la glucosa (21).

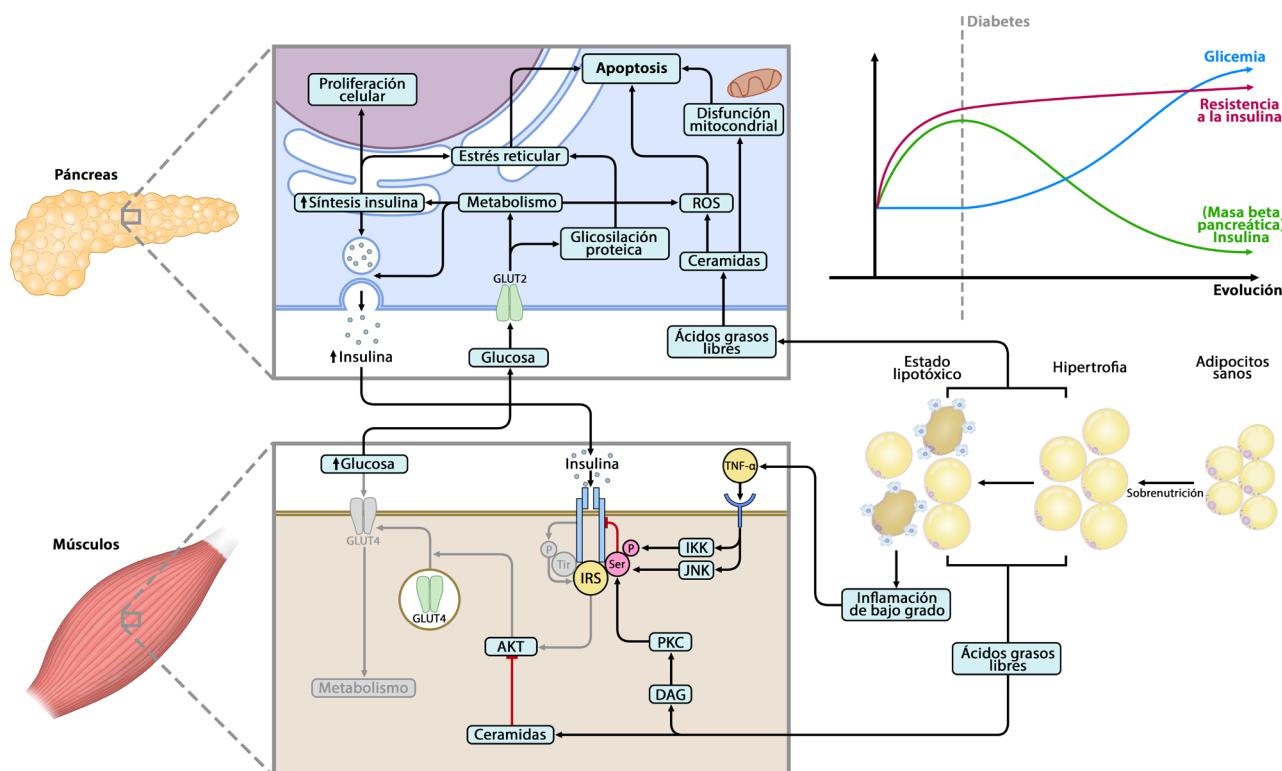


Figura 1: Vías de señalización que se ven afectadas en la resistencia a la insulina y mecanismos que llevan a la disfunción de la célula beta. **Fuente.** Amanda Ortiz Chang, Yerko Medina Pereira, Simón Gonzales Olmedo, Melisa Aguirre Gaete y Cristhian Jerez Fernández. Ilustrador: Christian Cardemil.

La insulina se une a su receptor de membrana, gatillando la fosforilación del mismo y proteínas post-receptor como IRS1 con posterior activación de AKT lo que determina la traslocación del GLUT4 a la membrana facilitando la captación de glucosa. En un proceso inflamatorio mantenido,

los mediadores inflamatorios se unen a su receptor de membrana activando proteínas quinasas como IKK y JNK. Dichas quinasas inhiben IRS1 al fosforilar los residuos de serina de este disminuyendo la señalización insulínica y posterior traslocación de receptores GLUT-4. El aumento de AGL

derivados de las alteraciones del microambiente del tejido adiposo interfieren en la señalización insulínica al activar la proteína cinasa C por diglicéridos, inhibiendo IRS1, o reduciendo la actividad de Akt por incremento en la producción de ceramidas detonando a grandes rasgos un aumento de la glucosa circulante. El aumento en la entrada de glucosa vía GLUT-2 a las células beta pancreáticas produce aumento en la glicosilación de proteínas del RE y producción de radicales libres generando un efecto de autoxidación de la glucosa que daña a la célula beta pancreática. El incremento de ácidos grasos produce lipotoxicidad mediante la formación de ceramidas, que se encargan de activar mecanismos de muerte celular en estas células mediante la liberación del citocromo C de la mitocondria, que activa las caspasas responsables de la apoptosis de las células β . El incremento de leptina tiene la capacidad de inducir apoptosis en las células β dado que incrementa reacciones de tipo inflamatorias y genera estrés oxidativo. A su vez el desequilibrio adiponectina-resistina produce un aumento en la expresión de factores inflamatorios vía NF κ B, gatillando finalmente el proceso de muerte celular.

Etiologías

Genéticas

La diabetes comprende una etiología multifactorial compleja donde interactúan elementos del ambiente, genéticos y epigené-

ticos. Clásicamente se ha descrito como una patología poligénica, gracias al estudio GWAS se han identificado más de 100 genes asociados a la DM2, la mayoría de estos están implicados en la función de la célula beta y secreción de insulina y en menor medida a la resistencia a la insulina. Sin embargo, solo se ha identificado alrededor del 10% de la heredabilidad general de la DM2. La epigenética también influye en el desarrollo de esta enfermedad, las modificaciones de la metilación, de las histonas y el silenciamiento génico del ARN están asociados, los cuales pueden ser modificados por factores ambientales (22).

Ambientales

Obesidad: El tejido adiposo está compuesto de adipocitos y su respectivo estroma, junto a numerosas células que conforman el microambiente celular. Las células inmunitarias del tejido adiposo tienen la capacidad de secretar factores relacionados con la inflamación. El aumento de la actividad lipogénica mantenida en los adipocitos producto de un aumento en la ingesta puede generar hipertrofia de estos. Los adipocitos presentan un límite respecto a la cantidad de hipertrofia que pueden sostener, dado el aumento de síntesis de ácidos grasos, una vez superado dicho tamaño umbral, el adipocito hipertrofiado presentará una disfunción en su actividad caracterizada por una disminución de la sensibilidad a la insulina, hipoxia, aumento de los parámetros de

estrés intracelular, autofagia, daño celular y finalmente muerte celular. En este momento se produce una infiltración de células inmunes que alteran el microambiente del tejido adiposo, detonando así un estado de inflamación tisular conocido como lipo-inflamación. El mayor tamaño de los adipocitos, unido a un estado inflamatorio concomitante del microambiente celular condiciona el correcto funcionamiento celular: 1) alterando su perfil secretor con una mayor producción de leptina y menor de adiponectina, 2) causando una menor sensibilidad a la insulina, 3) dañando la función mitocondrial y generando mayor estrés del retículo endoplasmático, 4) produciendo una mayor lipólisis basal, 5) alterando el citoesqueleto celular, y 6) ocasionando una menor lipogénesis de novo. El aumento del flujo de AGL, unido a los factores inflamatorios, convierte una situación de RI e inflamación local en un estado de RI sistémico y de inflamación crónica de bajo grado (23,24).

Alteraciones de la Microbiota intestinal: El concepto de microbiota intestinal abarca al conjunto de microorganismos que residen en el intestino en íntima asociación con el respectivo huésped a modo de mutuo beneficio (simbiosis). Dentro de este contexto los nutrientes no solo son esenciales para la salud humana, sino que también para la microbiota intestinal. Dentro de las funciones metabólicas de la microbiota intestinal destacan los procesos de digestión de polisacáridos complejos, producción de AG

de cadena corta, metabolismo de los ácidos biliares, entre otros, con sus consecuentes impactos tróficos sobre la barrera intestinal y el sistema inmunitario. La microbiota intestinal reglamenta de manera importante tanto inmunidad innata y adaptativa, ejerciendo su influencia en respuestas locales y sistémicas; pudiendo influir en los procesos de inflamación crónica asociada a la obesidad y resistencia insulínica (25,26).

En pacientes con diabetes se ha descrito descenso de las bacterias productoras de butirato como *Roseburia intestinalis* y *F. prausnitzii*; un aumento de *Lactobacillus gasseri* (*L. gasseri*), *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) y ciertos *Clostridium* además de una mayor proporción de Proteobacterias y un incremento de la expresión de genes de la microbiota envueltos en el estrés oxidativo e inflamación (27,28). Cambios observados en la composición y función de la microbiota se relacionan con un mayor riesgo de padecer DM2, hecho vinculado particularmente a un aumento en el número de *Bacteroides* y *Clostridium*. Dentro de las evidencias a destacar encontramos el aumento del rango de *Firmicutes/Bacteroidetes* en la porción distal del intestino, así como el aumento en la concentración de patógenos oportunistas y la producción de endotoxinas de bacterias Gram negativas (26,29). Diferentes estudios en animales han evidenciado que cambios en la microbiota son capaces de cambiar el grado de inflamación en tejido adiposo. Los lipopolisacáridos (LPS) son un componente

de la pared celular de las bacterias gram-negativas, los cuales incrementan en sujetos con una ingesta de grasa aumentada (29).

Se ha demostrado que tanto los LPS provenientes de las membrana celulares de las mismas bacterias Gram-negativas de la microbiota intestinal, como los ácidos grasos saturados de la dieta, pueden actuar a modo de ligando de los receptores tipo toll-like 4 (TLR4) y receptores tipo toll-like 2 (TRL2), los cuales a través de su activación conllevan a un aumento en la liberación de citoquinas inflamatorias endógenas relacionadas con el desarrollo de resistencia a la insulina (30).

Tabaquismo: El tabaquismo en sí es un factor etiológico para la diabetes tipo 2, adicionalmente de los efectos sistémicos que produce (estrés oxidativo, inflamación sistémica y disfunción endotelial), se ha asociado a la generación de resistencia a la insulina por metilación de genes relacionados; GRB10 (regula IR, tiene que ver con la señalización Ras-MAPK), IGF1R (gen para el receptor de IGF-1), PTP11 y ENPP1 (modulan la acción de la insulina), SHC1 y IRS1 (Sustratos para el receptor de la insulina), SORBS1 (potencia la fosforilación mediada por insulina), PIK3R1 (Isoforma de PI3K) (31,32).

Además, está asociado a un daño directo a la función de las células B pancreáticas. Estas células tienen receptores de acetilcolina

nicotínicos neuronales (nAChR). Tanto en el caso de exposición aguda (60 min) como crónica (48h) a la nicotina, se produce disminución de la secreción de insulina de las células β . Específicamente la exposición a concentraciones de nicotina superiores a 1 $\mu\text{mol/L}$ inhibe la secreción de insulina en las células de los islotes. La nicotina también puede causar un aumento de la apoptosis, mediado a través de la vía mitocondrial y/o del receptor de muerte (33). El tabaquismo prolongado destruye la parte exocrina del páncreas y los islotes pancreáticos se restringen y luego se destruyen. El tabaquismo se asocia de forma independiente con un mayor riesgo de obesidad central (por concentraciones más altas de cortisol). La obesidad central es un factor de riesgo bien establecido para la resistencia a la insulina y la diabetes (31).

Complicaciones metabólicas

Hiper glucemia

Cuando el cuerpo no logra compensar la mala interacción de la insulina con su receptor, se aprecian los efectos de hipoinsulinemia, como son la disminución de la internalización de la glucosa a las células y la activación de la gluconeogénesis y la glucogenólisis, secundario a estos mecanismos se genera un aumento en los niveles de glucemia plasmática. Definimos valores aumentados de glucemia cuando en ayu-

no supera los 100 mg/dL o los 140 mg/dL postprandial, sin embargo, para el diagnóstico de diabetes, estos valores deben generar un impacto clínico en el riesgo cardiovascular, lo que se conseguirá a valores más altos, en base a esto definiremos DM como la presencia de uno o más de los siguientes criterios: 1) glucosa plasmática en ayuno ≥ 126 mg/dL (≥ 7.0 mmol/L), en dos ocasiones diferentes; 2) síntomas de DM más una glucemia aleatoria ≥ 200 mg/dL (≥ 11.1 mmol/L); 3) glucosa plasmática 2 horas posteriores a la ingesta de 75 g de glucosa oral ≥ 200 mg/dL (≥ 11.1 mmol/L); 4) hemoglobina A1c $> 6.5\%$, en un laboratorio estandarizado (1,34,35).

El exceso de glucosa a nivel plasmático se filtra por vía renal, en donde se reabsorbe gracias a la función tubular, sin embargo, cuando se supera la capacidad reabsorbida, la glucosa restante se eliminará por la orina (glucosuria) y junto con ella se generará por gradiente osmótico una pérdida de agua, generando volúmenes de orina más abundantes (poliuria), esto impactará en una disminución de la volemia y un aumento de la osmolaridad plasmática, lo que generará una activación de los osmorreceptores, gatillando el mecanismo de la sed (polidipsia). El balance calórico negativo, que resulta de la glucosuria y el catabolismo tisular por perdida del eje insulina/glucagón en estadios más avanzados conduce a un aumento del apetito y la ingesta de alimentos (polifagia) (34).

Alteraciones del metabolismo lipídico

Se sabe que la insulina juega un rol importante en la inhibición de la lipasa hormosensible en adipocitos, por lo cual la desregulación de esta culmina en una actividad incrementada de la lipasa hormonosensible en adipocitos propiciando la síntesis de AG en el tejido adiposo, mismos que posterior a su movilización hacia el hígado son empleados para la síntesis de triglicéridos endógenos, detonando el posterior desarrollo de hipertrigliceridemia y generando un estado catabólico que lleva a una pérdida de peso corporal. Por otra parte tenemos un bloqueo en la síntesis de ácidos grasos dada la menor disponibilidad de NADPH trayendo como consecuencia una disminución en la síntesis de malonil-CoA y ácidos grasos en el hígado, a la vez que una acumulación de acetoacetil-CoA y acetil-CoA, este último no puede acceder al ciclo de Krebs, debido a la falta de oxalacetato, el cual se está empleando en la gluconeogénesis, por lo ingresa a la ruta de los cuerpos cetónicos, en general la producción de cuerpos cetónicos es discreta, puesto que los niveles de insulina que llegan al hígado son muy superiores al del tejido periférico, sin embargo, cuando estos niveles son extremadamente bajos o inexistentes, como ocurre en los diabéticos tipo 1 o ya en las últimas etapas de los diabéticos tipo 2 se producen cuerpos cetónicos en grandes cantidades que pueden generar un cuadro de cetoacidosis, sobre todo si la lipólisis es estimulada por un estímulo adrenérgico (19).

Hiperinsulinemia

La hiperinsulinemia corresponde a la secreción de insulina basal elevada y/o estimulada, esta se encuentra asociada con la obesidad y se considera casi universal en la antesala del desarrollo de DM2. Los niveles circulantes de insulina se ajustan rápidamente a modo de respuesta a la presencia de nutrientes en la sangre, sobre todo glucosa, y sufren alteraciones basales sostenidas en respuesta a la demanda crónica (estados constantes de hiperglucemia). La resistencia periférica a la insulina está muy relacionada con niveles elevados circulantes de insulina, y ambas características están ligadas con intolerancia a la glucosa (36, 37). La hiperinsulinemia es una respuesta compensatoria para prevenir la hiperglucemia cuando los tejidos periféricos no logran captar el exceso de glucosa debido a las condiciones resultantes de la obesidad (37).

La evidencia clínica y experimental indica que la hiperinsulinemia puede preceder y promover tanto la obesidad, (debido a un aumento en la recaptación de lípidos por parte del tejido adiposo comandada por esta) como la RI o la disglucemia (38). La glucosa es claramente un secretagogo de insulina dominante en las células β adultas, otros azúcares y sustratos que no son carbohidratos también pueden provocar una secreción significativa de insulina en algunas condiciones. Se ha visto que los ácidos grasos libres pueden estimular de forma aguda

la secreción de insulina en algunos individuos, ya sea solos o en el contexto de niveles elevados de glucosa (39, 40).

Se ha demostrado que la exposición prolongada a altos niveles de lípidos también puede aumentar el número de células β e inducir hiperinsulinemia en ayunas en algunos modelos de roedores. De manera similar, se considera el papel de algunos aminoácidos en la secreción aguda y crónica de insulina. Ejemplo de ello es la arginina que es un secretagogo de insulina conocido empleado para estimular “al máximo” la secreción de insulina en un entornos clínicos. Así mismo los niveles circulantes elevados de aminoácidos de cadena ramificada se asocian con la sobre nutrición, obesidad y diabetes tipo 2. El perfil metabólico de 2422 individuos de Framingham Offspring identificó niveles elevados de cinco aminoácidos aromáticos y de cadena ramificada (isoleucina, leucina, valina, tirosina y fenilalanina) que se asociaron significativamente con la diabetes posterior. (41, 42, 43).

Complicaciones estructurales

Las complicaciones estructurales se dan principalmente por un fenómeno denominado glucotoxicidad, la cual puede generar daño celular directo mediado por radicales libres (ROS) o alteraciones osmóticas, o daño indirecto debido a alteraciones en las proteínas, fenómeno conocido como glicosilación

proteica. Adicionalmente los pacientes con diabetes suelen presentar trastornos lípidos que pueden generar complicaciones principalmente macrovasculares. La cantidad de alteraciones que podemos ver en los pacientes con diabetes es muy amplia, por lo que para su comprensión es mejor realizar una clasificación, teniendo complicaciones microvasculares, en donde englobamos retinopatía, nefropatía y neuropatía, y complicaciones macrovasculares, las que son secundarias al daño de las paredes vasculares (aneurismas y ateromatosis).

Glucotoxicidad

El aumento de la concentración de glucosa intracelular produce un estímulo en la oxidación de la glucosa en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, aumentando la concentración de NADH y FADH₂, con aumento del flujo de estos a través de la cadena transportadora de electrones, produciéndose de esta manera un alto potencial de membrana mitocondrial, lo cual inhibe el transporte de electrones a nivel del complejo III y genera un aumento en la vida media de ROS intermedios de la coenzima Q, mismos que dan lugar a un incremento en la conversión de oxígeno a radicales superóxido. Estos radicales superóxido al encontrarse aumentados se van a encargar de inhibir la enzima gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), implicada en la conversión de gliceraldehido a difosfogliceraldehido en el metabolismo de la glucosa, produciendo de

esta manera un aumento en la cantidad de precursores en la vía glucolítica (44).

Cuando se genera hiperglucemia crónica, los órganos que no requieren insulina para la captación de glucosa ven incrementada su ruta metabólica, la vía del sorbitol. La presencia de sorbitol; caracterizado por no difundir fácilmente a través de las membranas celulares; genera un efecto osmótico detonando edema celular. En esta vía la glucosa es reducida irreversiblemente a sorbitol por la aldosa reductasa para lo que requiere como coenzima a NADPH. El sorbitol es transformado en fructosa por la sorbitol deshidrogenasa formando NADH. La disminución de la concentración de NADPH en el organismo imposibilita el actuar de la enzima óxido nítrico sintasa, lo que disminuye la generación de óxido nítrico, la actividad de la glutatión reductasa (se afecta la capacidad celular de regenerar los niveles de glutatión reducido el cual es un importante antioxidante intracelular) y la catalasa lo que lleva a la deficiencia de los sistemas antioxidantes (44).

La acumulación de fructosa genera un acoplamiento entre la glucólisis y la vía del sorbitol, lo que lleva a la acumulación de intermediarios de la glucólisis capaces de glicar proteínas y generar estrés oxidativo, a aumento de la relación NADH/NAD⁺, a la inhibición de G3PDH llevando a la acumulación de glucosa 3 fosfato. También se acumula fructosa-3-fosfato en el cristalino

y los eritrocitos con capacidad de glicar proteínas (45). La glicación es un proceso donde hay una modificación de proteínas inducida por carbohidratos formando productos de glicación avanzada conocidos como AGEs. Primero se producen los Amadori cuando reaccionan los grupos carbonilos de los carbohidratos con los grupo amino de las proteínas, a partir de ellos se forman compuestos como la 3-desoxiglucosona, el metilglicoxal y el glioxal (precursores de AGEs), los cuales son muy reactivos y pueden combinarse con las proteínas produciendo su agregación y pérdida de funciones biológicas (44, 45).

Los AGEs se pueden acumular en las histonas de las células pancreáticas produciendo efectos dañinos en la proliferación celular y expresión génica lo que lleva a un desgaste de los islotes. Estos mecanismos explicarían las complicaciones microvasculares que produce la hiperglucemia que se relacionan con el daño al endotelio y el músculo liso de la microvasculatura. Este tipo de complicaciones emergen por influencias genéticas, trastornos metabólicos y hemodinámicos que llevan al engrosamiento de las membranas basales de los capilares, angiopatía oclusiva, hipoxia y daño del tejido. Se pueden iniciar cinco o diez años después de manifestarse la enfermedad (46). La hiperglicemia también puede generar complicaciones macrovasculares, caracterizadas por aterosclerosis y enfermedad isquémica del corazón (47). De forma aguda la hiperglucemia puede desem-

bocar en cetoacidosis que se provoca cuando el organismo no cuenta con suficiente cantidad de insulina para poder ocupar a la glucosa como combustible, por lo que se comienzan a usar ácidos grasos generando como producto residual cetonas (47).

El RAGE es el receptor para los AGEs, a él se pueden unir múltiples ligandos ya que reconoce estructuras tridimensionales, está expresado en la mayoría de los tejidos (48). La interacción AGE-RAGE induce la activación de NF-KB a través de varias vías de señalización. Esto genera el paso de NF-KB del citoplasma al núcleo donde favorece la expresión de moléculas de adhesión vascular. Además, también actúa como un mecanismo de retroalimentación positiva para la expresión de más RAGEs. Esto deriva, en el tejido conectivo a la expresión de colágeno, a la proliferación de células musculares lisas, quimiotaxis y en la expresión de moléculas proinflamatorias, protrombóticas y estrés oxidativo mediante la activación de la NADPH oxidasa aumentando las especies reactivas de oxígeno (48, 49, 50).

Se ve facilitada la adhesión de monocitos y la migración hacia el espacio subendotelial y su diferenciación en macrófagos. Los AGEs aumentan la expresión de receptores de LDL oxidadas en estos, lo que resulta en una mayor transformación a células espumosas que se acumulan formando estrías grasas en la pared de los vasos. En la retinopatía diabética proliferativa la activación de RAGE

en la glía de Müller resulta en la activación de ERK 1/2 y la producción posterior de citocinas inflamatorias, lo que implica un papel crítico de RAGE en la neovascularización y la selección de células inmunes en las capas de la retina. Otras consecuencias de los efectos nocivos de RAGE en la retinopatía diabética incluyen la rotura de la barrera hematorretiniana y el aumento de leucotaxis (49, 50).

Fisiopatología de la retinopatía diabética

La microangiopatía diabética afecta primero y específicamente a la retina y está relacionada con el tiempo de evolución de la DM y su control metabólico. La hiperglicemia mantenida lleva a la formación de AGEs que pueden acumularse en proteínas del cristalino y en las membranas basales de los capilares retinianos, en el cristalino generan su opacidad y la formación de cataratas. Lo primero que sucede es un aumento de endotelina 1 que disminuye el flujo capilar causando isquemia, los pericitos responden produciendo factor de crecimiento vascular y luego mueren por destrucción por sorbitol y AGEs, luego la membrana basal de los capilares retinianos aumenta su permeabilidad al ser glicosilada, permitiendo salida de plasma rico en lipoproteínas que forman exudados céreos, que si están cerca de la mácula pueden disminuir la agudeza visual. La pérdida de los pericitos debilita la pared capilar que puede agrietarse y formar micro-

hemorragias, esta debilidad también causa microaneurismas en los cuales se pueden formar microtrombos que pueden ocluir los capilares y generar isquemia retinal (figura 2) (51, 52). Esto sumado a problemas en el flujo capilar lleva a microinfartos que se ven como exudados algodonosos en el examen de fondo de ojo. El tejido retinal en respuesta a la isquemia produce VEGF para estimular el crecimiento de vasos de neoformación que invaden el cuerpo vítreo, al romperse pueden causar hemorragia vítreo que lleva a la ceguera (52).

Nefropatía diabética

Efectos de la hiperglucemia a nivel renal: Las células del parénquima renal son especialmente sensibles a la aparición de hiperglucemia (53).

1-Alteraciones hemodinámicas

Activación del feedback (retroalimentación) túbulo glomerular y del sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA).

Sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA): La hiperglucemia estimula la expresión de renina y angiotensinógeno en las células mesangiales y tubulares; hecho que puede ser comandado por un aumento en la absorción de sodio (censado por la mácula densa actuando como detonante) producto de la mayor reabsorción de glucosa plasmática a nivel tubular y la disminución

de la volemia circulante debido a la poliuria constante en el paciente diabético; efecto neto que resulta en un aumento en la disponibilidad de angiotensina II que se encarga de inducir la expresión de citoquinas y factores de crecimiento a través de distintas vías autocrinas y paracrinas, elevando la producción de factores inflamatorios y pro-fibróticos (figura 2) (54).

Retroalimentación tubuloglomerular: Cuando el filtrado glomerular se eleva de manera exacerbada se produce un aumento del aporte de sodio a los segmentos distales, evento identificado por las células de la macula densa que ante dicho estímulo produce liberación local de adenosina, que genera vasoconstricción de la arteriola aferente y con ello una disminución en la tasa de filtración glomerular (TFG) (55).

En el caso de personas con DM2 mal controlada se genera hiperglucemia, la que aumenta las concentraciones de glucosa en el filtrado glomerular, con mayor aporte al TCP, estimulando los transportadores SGLT 1 y SGLUT 2, quienes mediante su mecanismo de cotransporte generan reabsorción de glucosa acoplada a sodio; esto reduce la concentración de sodio en la luz tubular, y su aporte de sodio a los segmentos distales por lo cual ante esta acción la mácula densa reacciona liberando óxido nítrico y prostaglandina E2 vasodilatando la arteriola aferente, lo que conlleva a un aumento del flujo sanguíneo glomerular,

hiperfiltración e hipertensión intracapilar (55). A nivel renal estos cambios se traducen en depósitos de matriz extracelular, engrosamiento de la membrana basal glomerular, cambios proliferativos, atrofia tubular, que finalmente se traducen en fibrosis intersticial y glomeruloesclerosis (figura 2) (54).

2-Efecto metabólico y rol de los factores de crecimiento en la progresión de la nefropatía diabética

El TGF- β se encuentra débilmente expresado en un glomérulo renal normal. En la diabetes, la hiperglicemia, proteína kinasa C, AGEs, especies reactivas del oxígeno y angiotensina II se van a encargar de estimular la expresión de éste, principalmente en células renales, mesangiales y del túbulos contorneado proximal. Este factor de crecimiento juega un rol importante en la progresión de la nefropatía ya que promueve la formación de tejido fibrótico en las células túbulos-intersticiales por medio de la acumulación de colágeno, fibronectina y laminina. Estos eventos inhiben la acción de colagenasas y disminuye la acción del sistema inmunológico (56).

El CTGF es otro elemento de la patogenia de la nefropatía como respuesta a la expresión del TGF- β . Ambos factores previamente mencionados se encargan de inducir la producción de matriz extracelular, proliferación celular, supervivencia y adhesión. Además, la mayor expresión de factor de

crecimiento de tejido conectivo induce a la activación de TGF- β , generando un efecto de retroalimentación positiva para la producción y acumulación de tejido fibrótico en células renales. El VEGF juega su rol en la producción de nuevos vasos sanguíneos, crecimiento de vasos ya existentes y en el desarrollo de la nefropatía diabética, aumentando su expresión por el TGF- β y angiotensina II que se ven aumentadas en las condiciones previamente mencionadas. El VEGF se encuentra principalmente en podocitos, túbulos colectores y túbulos cortaneados distales y ha sido encontrado en hipertrofia glomerular y renal, así como en la hiperfiltración como respuesta a la diabetes (56, 57).

Fisiopatología de la neuropatía diabética

Esta complicación afecta primero a las fibras sensitivas, autonómicas y después a las motoras del SNP de forma distal en extremidades inferiores. Es el principal factor de riesgo para el desarrollo de úlceras y, por tanto, de amputaciones. La neuropatía diabética progresiva implica la retracción y la “muerte” de los axones sensoriales terminales en la periferia, con una preservación relativa de los soma en un patrón de “guantes y calcetines” (58, 59).

La afectación de las fibras sensitivas lleva a pérdida de la sensibilidad termoalgésica, vibratoria y propioceptiva, la alteración de las fibras motoras lleva a la pérdida de la

mantención de una posición correcta de las articulaciones y una buena distribución de presión que lleva a atrofia muscular, deformidades óseas y alteración de la marcha. La lesión de las fibras autonómicas desregula el flujo sanguíneo y disminuye la sudoración que puede llevar a la formación de fisuras en la piel (59).

El aumento de los AGEs afecta al colágeno tisular, lleva a lesiones microvasculares y aumenta la permeabilidad vascular. El aumento de la vía del sorbitol aumenta el estrés oxidativo en los nervios periféricos que aumenta el paso de lípidos que conduce a isquemia e hipoxia de estos. El aumento de NADP+ impide la regeneración del glutatión lo que lleva a daño oxidativo del axón y las células de Schwann. Además, el metabolismo glucídico se desvía a DAG que activa la PKC, que induce la producción de factores proinflamatorios (97,98). La interacción AGE-RAGE genera que los macrófagos fagociten a la mielina que ha sido glicosilada. En las neuronas autónomas se oxida el canal alfa de sodio por lo que pierden la capacidad de generar potenciales de acción porque hay un déficit de NADPH (figura 2) (51).

Macroangiopatías

La macroangiopatía diabética consiste en el daño producido a los vasos de mayor calibre del organismo, principalmente a través de aterosclerosis de progreso acelerado con un daño más extenso y difuso en muchos te-

rritorios arteriales. Además, existe una falla en la vasculogénesis que lleva a la formación de menos vasos colaterales en respuesta a la isquemia. La rotura de placa y formación de trombos es más prevalente, por lo que conlleva a más ACV, insuficiencia cardíaca y síndromes coronarios agudos que corresponden a un 70% aproximadamente de las muertes en pacientes diabéticos. La acumulación intravascular de lípidos y detritos celulares caracteriza la formación de la placa aterosclerótica. Sin embargo, la hiperglucemia, la resistencia a la insulina y la inflamación crónica son procesos clave que promueven el desarrollo y la progresión de la aterosclerosis en la diabetes, mediante múltiples vías de señalización (60).

La aterosclerosis comienza por la adhesión de monocitos a células endoteliales que luego migran al subendotelio y se diferencian en macrófagos. La acumulación de lípidos hace que el LDL se oxide y se genere una respuesta inflamatoria. Los macrófagos captan el LDL oxidado y se transforman en células espumosas que se acumulan en la pared de los vasos formando la placa ateroesclerótica. La inflamación lleva a la secreción de factores de crecimiento que estimulan la proliferación de las células musculares lisas vasculares que forman una capa fibrosa. La acumulación continua de macrófagos, linfocitos, lípidos y matriz de tejido conectivo, rodeada por la capa fibrosa, representa la placa aterosclerótica madura. La capa separa la circulación del sistema de coagulación

por lo que su estabilidad es un factor crítico en que se genere la rotura de la placa. La RI en los macrófagos estimula la apoptosis y promueve la formación de un núcleo necrótico en placas ateroscleróticas avanzadas (figura 2) (61).

En la DM, se genera una reducción en la resistencia de la capa fibrosa, lo que puede aumentar la probabilidad de rotura (3). También se asocia con un estado de hipercoagulabilidad, con niveles aumentados de PAI-1 y disminución de tPA, cambios asociados con una mayor propensión a la formación de coágulos ya que las plaquetas están hiperfuncionales (62). La hiperglucemia induce ROS, lo que promueve la disfunción vascular. El estrés oxidativo promueve la inactivación y la reducción de la biodisponibilidad de NO, el aumento de la proliferación de células musculares vasculares, la adhesión de macrófagos, la apoptosis y remodelación vascular y mejora la activación plaquetaria. También puede conducir a una mayor producción de LDL oxidada en la pared del vaso (63). Además, aumenta la producción de DAG a partir de glucosa, aumentando así la activación de PKC, la que fosforila varias proteínas diana y afecta la permeabilidad vascular, disminuye la producción de NO y promueve la síntesis de matriz extracelular, el crecimiento celular, la adhesión de leucocitos y la activación de citocinas. Además, aumenta el estrés oxidativo mediante la activación de NADPH oxidasa, disminuyendo la producción de NO (figura 2) (64, 65).

El aumento de la actividad de la aldosa reductasa y la vía de los polioles, debido a la alta afluencia de glucosa, da como resultado la acumulación tóxica de compuestos como el sorbitol que genera ROS y promueve la vasoconstricción (66). Los niveles altos de glucosa y el estrés oxidativo aumentan las interacciones AGE-RAGE, alterando la señalización celular, promoviendo la expresión génica y mejorando el reclutamiento de leucocitos y la liberación de moléculas proinflamatorias y de adhesión. AGE genera ROS estimulando la actividad oxidasa de NADPH, reduciendo la actividad de eNOS y la producción endotelial de prostaciclina. Además, se activa NF- κ B mediador clave de la respuesta inflamatoria (67, 68).

La vía PI-3K de la cascada de señalización de la insulina, pero no MAP-K, es resistente a la estimulación por insulina, lo que resulta en una activación preferencial de la vía MAP-K. La señalización de MAP-K en pacientes con RI tiene propiedades aterogénicas y mitogénicas que conducen a la atherosclerosis, mientras que los efectos antiinflamatorios y antiaterogénicos de los niveles fisiológicos de insulina, que dependen de la vía PI-3K, se pierden. La vía de MAP-K que regula la secreción del vasoconstrictor endotelina-1 (ET-1) del endotelio (69). La producción de NO es mediada por la vía de transducción de la señal PI-3K y, por lo tanto, se ve afectada en los estados de resistencia a la insulina, lo que promueve la disfunción endotelial y la atherosclerosis acelerada.

La RI puede promover la atherosclerosis al alterar procesos sistémicos como la dislipidemia y la hipertensión. En los macrófagos el deterioro de la señalización de la insulina y los niveles elevados de AG promueve la apoptosis en las lesiones ateroscleróticas. La dislipidemia es un hallazgo común en personas con DMT2, que típicamente tienen concentraciones plasmáticas elevadas de TG y niveles plasmáticos bajos de HDL-C (70). Adicionalmente pueden tener LDL pequeñas y densas más aterogénicas. El aumento de la grasa hepática afecta la capacidad de la insulina para regular la gluconeogénesis (71). Los FFA pueden reducir la producción de NO a través de la estimulación dependiente de PKC de NADPH oxidasa, aumentando también la producción de ROS. La FFA elevada aumenta los marcadores de activación endotelial como ICAM-1, VCAM-1 y mieloperoxidasa, y puede facilitar el daño endotelial al aumentar la apoptosis (72).

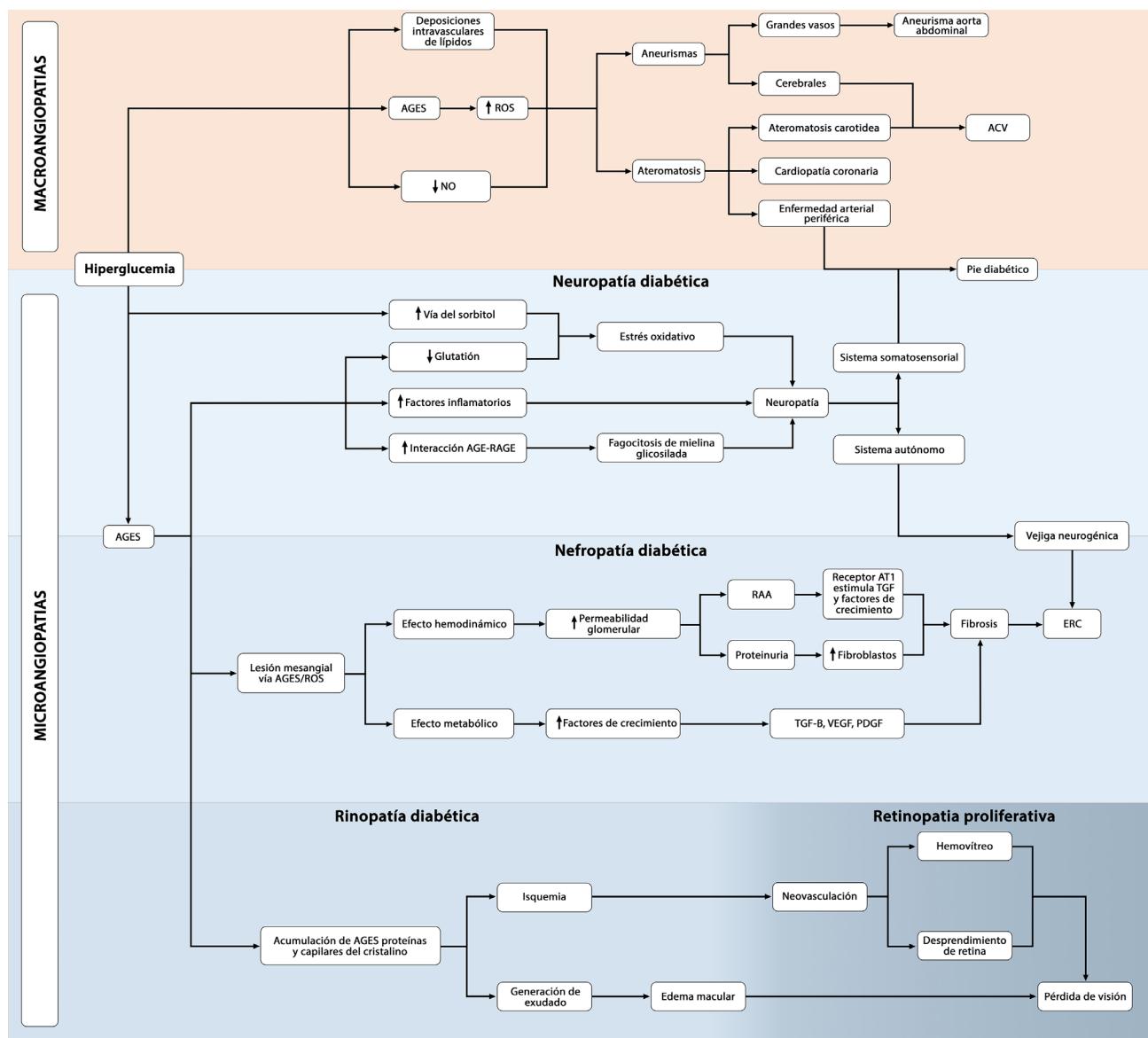


Figura 2: Complicaciones estructurales. **Fuente:** Amanda Ortiz Chang, Yerko Medina Pereira, Simón Gonzales Olmedo, Melisa Aguirre Gaete y Cristhián Jerez Fernández. Ilustrador: Christian Cardemil.

La macroangiopatía diabética consiste en un daño producido a los vasos de mayor calibre del organismo guiado por el aumento en la generación de AGES, reducción en la producción de NO y el aumento en las deposiciones intravasculares de lípidos que acarrean el desarrollo de una aterosclerosis de progreso acelerado con un daño más extenso y difuso en muchos territorios arteria-

les. En la neuropatía diabética aumenta la vía del sorbitol lo que aumenta el estrés oxidativo en los nervios periféricos, mientras que el aumento de NADP+ impide la regeneración del glutatión lo que lleva a daño oxidativo del axón y las células de Schwann. Se produce un aumento en la producción de factores proinflamatorios e incrementa la interacción AGE-RAGE que genera que

los macrófagos fagociten a la mielina que ha sido glicosilada. En la nefropatía diabética la lesión mesangial comandada vía AGES/ROS se subdivide en un efecto hemodinámico y uno metabólico. El hemodinámico produce aumento de la permeabilidad glomerular lo que implica una posterior activación del eje renina angiotensina aldosterona y aumento de la proteinuria mientras que el metabólico produce un aumento en la generación de factores de crecimiento, ambas rutas confluyen en el desarrollo de fibrosis a nivel glomerular con el desarrollo concomitante de Enfermedad Renal Crónica. En la retinopatía diabética la hiperglicemia mantenida lleva a la formación de AGEs que se acumulan en proteínas del cristalino y en las membranas basales de los capilares retinianos. Se produce un aumento de endotelina 1 que disminuye el flujo capilar causando isquemia, los pericitos responden produciendo factor de crecimiento vascular y luego mueren por destrucción por sorbitol y AGES, luego la membrana basal de los capilares retinianos aumenta su permeabilidad al ser glicosilada, permitiendo salida de plasma rico en lipoproteínas que forman exudados céreos, que si están cerca de la mácula pueden disminuir la agudeza visual. El tejido retinal en respuesta a la isquemia produce VEGF para estimular el crecimiento de vasos de neoformación que invaden el cuerpo vítreo, denotando el inicio de una fase proliferativa en la cual la rotura de los vasos de neoformación puede causar hemorragia vítreo que lleva a la ceguera.

Productos de glicación avanzada (AGES); Receptores para compuestos de glicosilación avanzada (RAGE); Especies reactivas del oxígeno (ROS); Óxido nítrico (NO); Accidente cerebrovascular (ACV); Eje renina-angiotensina-aldosterona (RAA); Enfermedad renal crónica (ERC).

Otras complicaciones

Síndrome de Ovario poliquístico: El desarrollo del síndrome de ovario poliquístico está dado principalmente por el progresivo avance de la RI que expresa una hipersecreción de insulina compensatoria acompañada de una menor depuración de dicha hormona. El aumento en las concentraciones de insulina produce una mayor producción de andrógenos debido a que aumenta la frecuencia de pulsos por parte de la hormona luteinizante (LH). De igual manera este aumento promueve una mayor secreción de andrógenos por parte del ovario y las glándulas suprarrenales y disminuye la síntesis hepática de la SHBG (globulina transportadora de hormonas sexuales) aumentando la fracción libre de andrógenos y su actividad biológica (73, 74).

Hígado graso: En la actualidad aproximadamente un 70% de los pacientes que padecen DM2 tienen hígado graso no alcohólico, por lo que es una de las complicaciones más habituales. Incluye desde la esteatosis hepática hasta la esteatohepatitis no alcohólica y puede progresar a cirrosis hepática

si se genera un proceso fibrótico o cáncer hepático, además aumenta el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular (75).

El hígado graso no alcohólico se caracteriza por una acumulación grasa dentro del hepatocito provocado por la resistencia a la insulina (la insulina no genera su efecto supresor de la lipólisis) que aumenta el flujo de ácidos grasos libres desde el tejido adiposo al hígado. Estos lípidos además pueden causar lipotoxicidad hepática contribuyendo al desarrollo de esta condición, por ejemplo, el ácido palmítico aumenta la apoptosis de los hepatocitos. La esteatosis hepática puede contribuir aún más a la patogénesis de la DM2 al exacerbar la resistencia a la insulina ya que el hígado comienza a secretar proteínas diabetogénicas como la fenitoína-A, el factor de crecimiento de fibroblastos y la proteína unida a retinol. (75, 76).

Bases fisiopatológicas del tratamiento

Nutrición

La pérdida de peso se ha asociado con una mejora en el control glucémico y en otros factores cardiovasculares asociados a la DM2, por lo que la terapia nutricional es un pilar fundamental en el tratamiento de esta patología. La terapia de nutrición médica TNM es descrita como una terapia intensiva de nutrición que está enfocada y estructurada para ayudar a cambiar la con-

ducta alimentaria de los pacientes con diabetes. Su objetivo principal es lograr y mantener un control glucémico óptimo y una mejora metabólica mediante elecciones de alimentos saludables considerando las necesidades, preferencias y estilo de vida de los pacientes. Su uso adecuado demostró una reducción de la HbA1c del 0,5-2% y es particularmente beneficioso después del diagnóstico inicial de la patología en pacientes con control glucémico deficiente. Para su implementación requiere de una evaluación integral del patrón de alimentación del individuo, sus necesidades y estado nutricional. Es importante para la elección de un plan nutricional considerar la composición de los macronutrientes ya que tienen diferentes impactos en la glucemia (77).

Carbohidratos: Se recomienda reducir la carga glucémica total de carbohidratos y su índice glucémico (IG), que se refiere a la capacidad que tienen los carbohidratos de incrementar la glucemia en sangre, por lo que un carbohidrato con bajo índice glucémico aumenta lentamente la glucosa en sangre. Una dieta baja en carbohidratos, baja en grasas saturadas y alta en grasas insaturadas logra mayores mejoras en el perfil lipídico, la glucemia y una reducción en el número de medicamentos utilizados. Se aconseja reducir los carbohidratos totales a 40-45% de la ingesta calórica diaria total favoreciendo los que tengan un IG más bajo, ya que muestran mejores efectos en disminuir la glucemia. Además, estos alimentos suelen

tener un mayor contenido de fibra. La cual se recomienda aumentar ya que tiene beneficios en la saciedad, tiempo de tránsito gastrointestinal y la glucemia. Se recomiendan 14 g de fibra por 1000 calorías. Se deben limitar los azúcares añadidos en la dieta, la ingesta excesiva de bebidas azucaradas con gran contenido de fructosa influye negativamente generando más depósito de grasa visceral, disminuyendo la sensibilidad a la insulina y aumentando la lipogénesis de novo (77).

Un error común es considerar que la fructosa es mejor carbohidrato que la glucosa ya que posee un IG más bajo, pero en la actualidad se sabe que la fructosa es altamente adipogénica, por lo que su abuso lleva de igual forma a la resistencia a la insulina, además en el hígado, la fructosa experimenta un metabolismo intermedio de tres pasos que genera triosas-fosfatos que se unen a la vía de la glucólisis, por lo que la fructosa induce muy poca secreción de insulina (78). Lípidos: Es más importante el tipo de grasa que la cantidad ingerida. El consumo de ácidos grasos poliinsaturados protege contra la mortalidad por ECV en pacientes con diabetes (77).

Proteínas: No se recomienda la restricción de proteínas ya que los pacientes diabéticos (especialmente los mal controlados) pierden más rápido una cantidad significativa de masa muscular a medida que envejecen. Los pacientes que se encuentran en una dieta

hipocalórica deben aumentar su ingesta de proteínas. La ingesta de proteínas no debe ser menor a 1,2 g/kg de peso corporal, aproximadamente 20-30% del total de calorías diarias (77).

Fórmula nutricional específica para diabetes: Una fórmula EN que contiene cargas altas en proteínas y bajas en carbohidratos puede mejorar significativamente el control de la glucosa en sujetos con diabetes tipo 2 en entornos ambulatorios, como lo demuestra el control mejorado de la glucosa observado sin una diferencia significativa en la respuesta a la insulina (79).

Patrones dietarios: El patrón dietético es una combinación general de alimentos beneficiosos que se consumen habitualmente, que juntos producen efectos sinérgicos para la salud. Los patrones dietéticos saludables son comúnmente ricos en frutas, verduras, nueces, legumbres, pescado, productos lácteos y aceites vegetales y bajos en carnes rojas, carnes rojas procesadas, granos refinados, sal y azúcar agregada (77).

Ejemplos de patrones dietéticos son: 1) Bajo en carbohidratos, 2) Bajo en IG, 3) Alto en fibra, 4) Alto en proteínas, 5) Vegetariano; Genera una reducción del 0,39% de la HbA1c, pero no tiene efecto sobre la glucemia en ayuna. (1) La carne tiene una alta cantidad de grasas saturadas que pueden desencadenar apoptosis de las células beta humanas y se asocian negativamente a

la secreción de insulina, la ingesta elevada de proteína animal puede inducir RI, 6) Mediterráneo: Es el que logra el máximo beneficio en el control glucémico, reduce la HbA1c en un 0,3-0,47% y tiene efectos beneficiosos cardiovasculares, mejora la sensibilidad a la insulina y reduce la oxidación e inflamación, 7) Dieta DASH (enfoques dietéticos para detener la hipertensión): Mejoran significativamente el control glucémico y los parámetros cardio-metabólicos y marcadores de inflamación (77, 80). Adicionalmente a lo mencionado anteriormente, cabe destacar que la evidencia actual sugiere que la hora del día en que se consume la comida puede afectar el control glicémico. Comer una comida rica en carbohidratos por la noche produce un aumento de la glucemia postprandial en comparación con una comida por la mañana y comer alimentos con IG bajo por la mañana mejora la respuesta glucémica. Además, el consumir las grasas y proteínas con los alimentos en un orden de presentación específico puede reducir la respuesta glucémica. Se encontró que la ingestión de grasa en forma de aceite de oliva, media hora antes de una comida de papa, atenua la glucosa e insulina posprandial en los diabéticos tipo, también se encontró que la proteína de la leche administrada como una precarga antes de consumir pan en lugar de la cogestión de ambos alimentos, redujo significativamente la glucemia posprandial y la insulinemia (81).

Ejercicio

Un estilo de vida sedentario es un factor de riesgo para la DM2, el estudio de salud de la mujer y en el estudio de factores de riesgo de enfermedad cardíaca isquémica de Kuopio, mostró una reducción del 34% y una reducción del 56% del desarrollo de DM2 en participantes que caminan de 2 a 3 horas a la semana o al menos 40 minutos a la semana, respectivamente (1). Hay tres beneficios principales de la actividad física sobre el retraso del inicio de la DM2: 1) La contracción de las células del músculo esquelético induce un aumento del flujo sanguíneo hacia el músculo, lo que mejora la captación de glucosa del plasma; 2) La actividad física reduce la notoria grasa intraabdominal, que es un factor de riesgo conocido que promueve la RI; 3) El ejercicio de intensidad moderada mejora la captación de glucosa en un 40%. (82, 83, 84). La actividad física mejora la captación de glucosa y la sensibilidad a la insulina, pero también puede mejorar o incluso revertir la inflamación y el estrés oxidativo, que son factores predisponentes a la DM2 (83).

En sujetos con DM2 la dieta y el ejercicio físico EF producen pérdida de peso, lo que favorece la reducción del uso y la dosificación de fármacos de manera significativa. Dentro de los efectos positivos de la actividad física en pacientes con DM podemos encontrar; mejoría de la sensibilidad a la insulina, lo que disminuye la insulinemia

basal y posprandial; aumento en la utilización de glucosa por parte del músculo, debido a que incrementa su demanda energética contribuyendo a evitar la hiperglucemia (siendo destacables los ejercicios de fuerza muscular por sobre los aeróbicos dado que este aumenta en mayor medida la masa magra, la calidad muscular y la fuerza por unidad de volumen) mejoran y cambian las características de la fibra muscular además las respuestas mediadas por la contracción local, pueden aumentar la señalización intracelular, llevando a incrementos de los transportadores GLUT4 de membrana y sensibilidad a la insulina; reducción de las necesidades diarias de insulina, mejoría en los estados de hipercoagulabilidad y las alteraciones de la fibrinólisis debido a una reducción en la síntesis de fibrinógeno a nivel hepático; mejoría de la respuesta anormal de las catecolaminas al estrés, aumento del gasto energético y de la pérdida de grasa, que contribuye a controlar el peso corporal y evita la obesidad. Otros beneficios del EF en el diabético son aumento de la fuerza ósea, minimización de la sarcopenia, mejora el balance corporal, reduce el riesgo de caídas, disminuye la presión arterial y en menor medida el colesterol, LDL, triglicéridos y aumenta el HDL (84, 85).

Uno de los mecanismos planteados para explicar como la contracción muscular aumenta la captación de glucosa, es el transporte de glucosa activado por la AMPK y la proteína cinasa 1 dependiente de Ca²⁺/Cal-

modulina (CaMK1). El mecanismo de acción de este proceso puede ser descrito por medio de la siguiente secuencia: 1) Las contracciones musculares incrementan tanto la relación AMP/ATP, como las concentraciones de Ca²⁺/calmodulina al interior celular; 2) Por un lado, el 5'AMP activa a la cinasa de la AMPK (AMPKK) y a la AMPK, y de manera adyacente, el aumento del Ca²⁺ y del complejo Ca²⁺/ calmodulina citoplásicos, activan a la CaMK1K (se sugiere que la AMPKK y CaMK1K puedan ser la misma enzima); 3) en conjunto el 5'-AMP como el AMPKK y CaMK1K activan a la AMPK; 4) La AMPK incrementa la transcripción de GLUT-4 y la hexocinasa y por mecanismos aún no bien esclarecidos y la translocación de GLUT- 4; 5) Finalmente, el aumento en la transcripción de GLUT-4, de la hexocinasa y de la translocación de GLUT-4, producen un incremento en el transporte y fosforilación de la glucosa (86).

Un estudio realizado el año 2010, en jóvenes sanos, los cuales fueron sometidos a entrenamiento físico en estado de ayuno o bien con aporte de dieta hipercalórica: obtuvieron que el entrenamiento físico en ayuno aumentó significativamente la cantidad transportadores Glut-4 en un 28% y la fosforilación de la AMP-Kinasa en un 25%, la traslocasa/CD36 en un 30% y la carnitina palmitoiltransferasa 1 mRNA (CPT1mRNA) en un 30% en comparación con el grupo control. Indicando que tanto la tasa de oxidación de ácidos grasos, tolerancia a

la glucosa y la sensibilidad a la insulina se vieron incrementados en comparación al grupo de control (86).

Insulina

La insulina exógena mejora la capacidad del cuerpo para metabolizar los carbohidratos, almacenar glucosa en el hígado y convertir el glucógeno en almacenamiento de grasa. Es el tratamiento principal en todos los pacientes con DM1. En la DM2 la insulina se considera en combinación con agentes orales cuando la A1c es $\geq 7,5\%$ (87).

En estadios avanzados de la enfermedad en donde se puede observar poca o nula respuesta a la terapia farmacológica con ADO y se inicia tratamiento con insulina exógena, esta debe de acompañarse con cambios en el hábito alimentario del individuo ya que si no existen cambios en la dieta hipercalórica, la insulina exógena provoca la expansión del tejido graso debido a su efecto lipogénico, dado que promueve el almacenamiento energético en forma de lípidos en las células del tejido adiposo, además la insulina estimula la adipogénesis mediante activación de factores de transcripción que inducen la transcripción de PPAR-gamma mediante la inhibición de la actividad de FOXO1 (87).

Existen presentaciones basales o de acción prolongada y el bolo o prandial. Las basales permiten una absorción más lenta, sin picos y una acción de larga duración lo que simu-

la de mejor forma la secreción basal de insulina. Generalmente se administra una vez al día, cada 24 horas, todos los días a la misma hora. La insulina en bolo es de acción rápida y se utiliza para cubrir la hora de las comidas junto a la insulina basal (87).

Hipoglucemiantes no insulina.

A-Biguanidas

La metformina es un fármaco derivado de la guanidina usado como terapia farmacológica de primera línea en la DM2. Existe gran controversia sobre su mecanismo de acción, pero hasta ahora se sabe que reduce la tasa de producción de glucosa hepática, mejora la acción de la insulina en el músculo esquelético, aumenta la actividad del IR y de los IRS-2, aumenta el metabolismo anaeróbico en la pared intestinal, aumenta los niveles de GLP-1 e induce una regulación positiva en la expresión de sus receptores en las células β , reduce la actividad de la DPP-4 y tiene un efecto protector de la vasculatura al reducir niveles de marcadores de disfunción endotelial. Además, en algunos estudios se ha visto que disminuye la ingesta de alimentos y el peso corporal (88, 89, 90).

Sus efectos tienen una gran variabilidad interindividual, su captación por el organismo es dependiente de transportadores de membrana SLC22A, OCT1, OCTN1, MATE y PMAT. La metformina inhibe la

respiración mitocondrial del complejo I de la cadena respiratoria lo que resulta en un aumento de la actividad de la AMP quinasa que promueve la acción de la insulina y reduce la gluconeogénesis hepática, ya que este órgano posee gran cantidad de receptores SLC22A. El aumento del AMPc también se opone a la acción del glucagón (figura 3) (91).

Mejora la captación de glucosa mediante una mayor translocación de GLUT-1 a la membrana. En el músculo genera un aumento de la actividad tirosina quinasa del IR y una mayor translocación de los receptores GLUT-4 (figura 3). Debido a los mecanismos anteriormente descritos, la metformina disminuye los estados hiperglucémicos, con un riesgo muy bajo de hipoglucemias. Esto resulta en una disminución de la HbA1c en personas con DM tipo 2 de entre 1 y 2%, dependiendo de la dosis. Los efectos adversos de este fármaco incluyen efectos en el sistema GI (principalmente diarrea) y se ha asociado a una deficiencia clínicamente significativa de vitamina B12. Se cree que la metformina induce malabsorción de vitamina B12 y factor intrínseco en el íleon, un efecto que puede revertirse aumentando la ingesta de calcio, por lo que se sugiere suplementación cuando sea necesario. Cuando la molécula de metformina es protonada, se dirige al núcleo de hidrocarburo de la membrana de las células del íleon cargando positivamente su membrana, de esta manera el flujo de calcio se des-

plaza por las fuerzas de repulsión alterando la unión dependiente de calcio del complejo IF-vitamina B12 al receptor de cubilina en el íleon lo que produce la malabsorción de vitamina B12 (92).

La metformina altera el metabolismo oxidativo y el transporte de agentes oxido-reductores a través de las membranas mitocondriales inhibiendo el metabolismo aerobio, además incrementa la producción de lactato intestinal, esto contribuye a un aumento del ácido láctico de manera dependiente a su concentración plasmática, si esto se suma a una condición secundaria que interrumpe aún más la producción o eliminación de lactato, se puede generar acidosis láctica asociada a metformina (MALA). Se espera que el próximo ensayo GLINT (Glucose Lowering In Non-diabetic hyperglycemia Trial) demuestre definitivamente hasta qué punto la metformina protege la vasculatura en una población prediabética con alto riesgo de eventos cardiovasculares adversos (90, 88).

B-Inhibidores de la DPP-4 y análogos del GLP-1

Los inhibidores de la DPP-4 bloquean la degradación de GLP-1 y GIP aumentando sus niveles activos, tienen un impacto modesto en el control glucémico, son bien tolerados y no generan hipoglucemia (93). Además, al inhibir la degradación de SDF-1 α , los inhibidores de DPP-4 pueden mejorar la

localización de células progenitoras endoteliales y, por lo tanto, ejercer protección vascular, pero esto aún no ha sido demostrado por ensayos clínicos. Los agonistas del receptor de GLP-1 son derivados peptídicos del GLP-1 humano diseñados para resistir la actividad de la DPP-4, por lo que tienen una vida media más prolongada (93).

Los GLP-1RA se describen como de acción corta o de acción prolongada, según sus propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas. Los GLP-1RA de acción corta tienen una vida media de 2 a 4 h, por lo que necesitan una administración una o dos veces al día. Los GLP-1RA de acción prolongada tienen una vida media > 12 h (liraglutida), y otros, como albiglutida, dulaglutida, exenatida de liberación prolongada y semaglutida tienen una vida media de hasta 14 días. Estas propiedades permiten la administración una vez a la semana de los GLP-1RA de acción más prolongada (93, 94, 95). El efecto farmacodinámico de los GLP-1RA sobre el control glucémico difiere entre las preparaciones de acción corta y las de acción prolongada. Los GLP-1RA de acción corta reducen principalmente la respuesta de la glucosa posprandial al desacelerar el vaciamiento gástrico además de mejorar la secreción de insulina. Los GLP-1RA de acción prolongada reducen el nivel de glucosa en sangre en ayunas al estimular la secreción de insulina y reducir el glucagón durante un período de tiempo prolongado. Ambos fármacos se usan como complemento a la terapia con metformina (figura 3). (93, 95).

Según su estructura química los potenciadores de incretinas se dividen en los que imitan a la molécula de la DPP-4 (peptidomiméticos) entre los que se encuentran VILDA y SAXA y los que no la imitan (no peptidomiméticos) SITA, LINA y ALO. Se dividen en peptidomiméticos (imitan a DPP-4) y no peptidomiméticos (no imitan a DPP-4). Los no peptidomiméticos tienen intrínsecamente una vida media larga, actúan en forma no covalente en el sitio catalítico del sustrato de la DPP-4 con acción inhibitoria sostenida por 24 horas. En cambio, los peptidomiméticos tienen una vida media muy corta, que es prolongada por la fracción cianopirrolidina presente en estos fármacos (95).

En monoterapia la exenatida reduce la HbA1c en 0,7 a 0,9%, e induce baja de 2,8-3,1 kg de peso corporal (93). El alto costo económico de los Análogos de GLP-1 y el uso inyectable para su implementación hace que en las guías clínicas chilenas prefieran los IDPP-4. Se sugiere considerar el uso de los Análogos de GLP-1 en personas adultas con IMC > 30 kg/m² (96).

C-Sulfonilureas

La función principal de las sulfonilureas es aumentar la liberación de la insulina desde el páncreas. Estas actúan mediante la unión a un receptor de la sulfonilurea de alta afinidad de 140 kDa asociado a un canal rectificador de potasio de entrada de las células

pancreáticas beta sensible a ATP. La unión de una sulfonilurea inhibe el flujo de iones de potasio a través del canal generando como resultado la despolarización de estas. La despolarización abre un canal de calcio activado por voltaje y da como resultado la afluencia de calcio y con la entrada de este la liberación de la insulina preformada. Los secretagogos de insulina cierran el canal de potasio dependiente de ATP, despolarizando la membrana y causando un aumento en la liberación de insulina por el mismo mecanismo (figura 3) (97, 98).

D-Inhibidores del cotransportador sodio-glucosa (SGLT-2)

La glucosa se filtra libremente por los glomérulos renales y es reabsorbida en los túbulos proximales por acción de los transportadores de sodio-glucosa (SGLT). El transportador 2 de sodio-glucosa (SGLT2) representa 90% de la reabsorción de glucosa; al generar inhibición de este transportador se desarrolla glucosuria producto de la menor reabsorción concomitante y se reducen los niveles de glucosa en los pacientes con diabetes tipo 2. Este efecto se acompaña de un efecto diuresis osmótica inducida por la glucosa favoreciendo la reducción de esta (11, 99, 100).

Efecto cardioprotector de los inhibidores de SGLT2: En el túbulo proximal los inhibidores de SGLT2 han demostrado tener efecto sobre el cotransportador sodio hidróge-

no (NHE3), responsable de la reabsorción tubular de sodio, que está implicado en la resistencia a los diuréticos y los péptidos natriuréticos endógenos. Los inhibidores de SGLT2 favorecen la excreción de bicarbonato con aumento en la acidemia, además de permitir una mayor natriuresis mediante su acción inhibitoria sobre el cotransportador NHE3 obteniendo como resultado una disminución del volumen intravascular circulante, hecho correlacionado directamente con el descenso del estrés en la pared cardiaca, teniendo efectos benéficos disminuyendo la progresión de la insuficiencia cardiaca (100,101). Adicionalmente en modelos experimentales los inhibidores de SGLT2 han evidenciado su efecto al disminuir la progresión de la miocardiopatía hipertrófica. En modelos animales con insuficiencia cardiaca la actividad del cotransportador NHE3 se ha visto incrementada a nivel cardiaco, produciendo aumento de sodio intracelular en los cardiomiositos y de calcio por medio de la acción de los NHE3, efecto traducido en miocardiopatía y desarrollo de fibrosis. Baartscheer y su grupo refieren que la acción de la empagliflozina inhibe los cotransportadores NHE3, efecto traducido en la reducción del calcio intracelular, evento que a su vez evita el estrés oxidativo que lleva al remodelamiento, disfunción sistólica e insuficiencia cardiaca. Al reducir el calcio intracelular se produce un incremento del calcio mitocondrial, la regulación de este último permite la activación de cascadas de señalización para la síntesis

de ATP y vías antioxidantes. Los efectos en la natriuresis favorecen la disminución en la precarga cardíaca, mientras que la poscarga se correlaciona con disminución de la rigidez de los vasos sanguíneos permitiendo un mejor flujo subendocárdico (100, 101). Se ha evidenciado que tanto el uso de canagli-

flozina como de dapagliflozina ejercen un factor cardioprotector al reducir la cantidad de episodios dañinos de estirpe cardiovascular en aquellos pacientes tratados con los estos agentes, denotando de esta manera el potencial terapéutico de estos fármacos (102, 103).

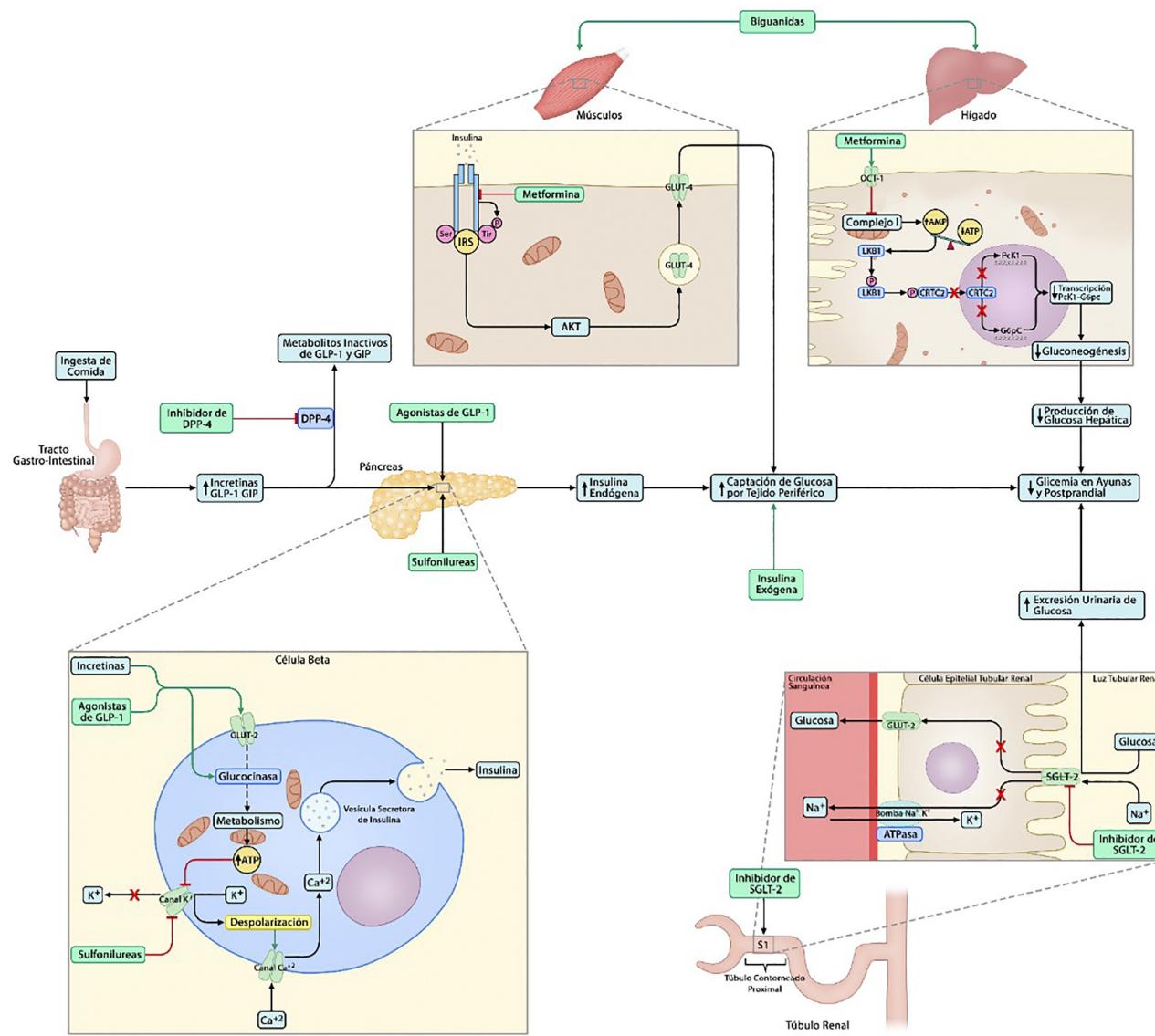


Figura 3: Manejo farmacológico DM2. **Fuente:** Amanda Ortiz Chang, Yerko Medina Pereira, Simón Gonzales Olmedo, Melisa Aguirre Gaete y Cristhián Jerez Fernández. Ilustrador: Christian Cardemil.

Los agonistas de GLP-1 actúan mediante efecto incretina aumentando la liberación de insulina por parte de la célula beta pancreática favoreciendo el metabolismo de la glucosa. Los inhibidores de DPP4 producen inhibición de la enzima DPP4 aumentando las concentraciones de incretinas circulantes al disminuir la metabolización de estas. Los secretagogos de insulina como las sulfonilureas cierran el canal de potasio dependiente de ATP, despolarizando la membrana y causando un aumento en la liberación de insulina. Por otro lado respecto a las biguanidas se sabe que inhiben la respiración mitocondrial del complejo I de la cadena respiratoria lo que resulta en un aumento de la actividad de la AMP kinasa que promueve la acción de la insulina y reduce la gluconeogénesis hepática mientras que en el músculo genera un aumento de la actividad tirosina quinasa del receptor de insulina y una mayor translocación de los receptores GLUT-4 disminuyendo los estados hiper-glucémicos no obstante el mecanismo de acción exacto aún no está del todo esclarecido. Finalmente, los inhibidores de SGLT-2 al generar inhibición de este transportador desarrollan una menor reabsorción de glucosa a nivel renal reduciendo los niveles de glucosa circulantes.

Discusión

La diabetes mellitus, se ha convertido en uno de los mayores problemas de salud a nivel mundial, debido a las altas tasas de

mortalidad y morbilidad que acarrea esta patología multifactorial en donde tanto la predisposición genética como estilos de vida poco saludables juegan un rol gatillante en el desarrollo de esta. Las elevadas concentraciones de glucosa por largos períodos de tiempo inducen cambios metabólicos importantes que conllevan a alteraciones generalizadas en el organismo acompañadas de un daño progresivo a largo plazo en diferentes órganos destacando complicaciones específicas como la retinopatía, nefropatía y neuropatía diabética, de igual manera, los pacientes con diabetes presentan a su vez un incremento en el desarrollo de enfermedad ateroscleróticas, enfermedad arterial periférica y cerebrovascular, todos elementos que generan un efecto deletéreo en la calidad de vida de la persona que lo padece. La aplicación temprana de medidas no farmacológicas y farmacológicas en este grupo de pacientes puede reducir en forma importante la progresión de la enfermedad y sus complicaciones, tanto cambios de estilo de vida, basados en una dieta saludable y actividad física regular acompañada con una moderada reducción de peso constituyen medidas exitosas en el manejo de esta enfermedad que ha ido en un ascenso constante estos últimos años.

Agradecimientos

Se agradece a la Dra. Natalia Hassan, al Dr. Flavio Carrión y al Dr. Claudio Rojas Cabello por su contribución en la revisión

técnica del presente artículo. Se agradece a Christian Eduardo Cardemil Canales por su contribución en el material gráfico del presente artículo. Se agradece a Benjamín Hermansen por su contribución en la traducción del presente artículo.

Fuentes de financiación: La investigación se desarrolló sin financiamientos externos.

Declaración de conflictos de interés: Los autores expresan que no existen conflictos de interés al redactar el manuscrito.

Referencias

1. Galicia-García U, Benito-Vicente A, Jebari S, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):1-34. doi:10.3390/ijms21176275
2. International diabetes federation. International diabetes federation. International diabetes federation.
3. Petersen M, Vatner D. Regulation of hepatic glucose metabolism in health and disease. HHS Public Access. 2018;13(10):572-587. doi:10.1038/nrendo.2017.80. Regulation
4. Dashty M. A quick look at biochemistry: Carbohydrate metabolism. *Clin Biochem.* 2013;46(15):1339-1352. doi:10.1016/j.clinbiochem.2013.04.027
5. Keane K, Newsholme P. Metabolic Regulation of Insulin Secretion. Vol 95. 1st ed. Elsevier Inc.; 2014. doi:10.1016/B978-0-12-800174-5.00001-6
6. Tokarz VL, MacDonald PE, Klip A. The cell biology of systemic insulin function. *J Cell Biol.* 2018;217(7):2273-2289. doi:10.1083/jcb.201802095
7. de Jesús Sandoval-Muñiz R, Vargas-Guerrero B, Flores-Alvarado LJ, Gurrola-Díaz CM. Glucotransportadores (GLUT): Aspectos clínicos, moleculares y genéticos. *Gac Med Mex.* 2016;152(4):547-557.
8. Holst JJ. The incretin system in healthy humans: The role of GIP and GLP-1. *Metabolism.* 2019;96:46-55. doi:10.1016/j.metabol.2019.04.014
9. Campbell JE, Drucker DJ. Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell Metab.* 2013;17(6):819-837. doi:10.1016/j.cmet.2013.04.008
10. Nauck MA, Meier JJ. The incretin effect in healthy individuals and those with type 2 diabetes: Physiology, pathophysiology, and response to therapeutic interventions. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(6):525-536. doi:10.1016/S2213-8587(15)00482-9
11. DeFronzo RA, Davidson JA, del Prato S. The role of the kidneys in glucose homeostasis: A new path towards normalizing glycaemia. *Diabetes, Obes Metab.* 2012;14(1):5-14. doi:10.1111/j.1463-1326.2011.01511.x
12. Pereira-Moreira R, Muscelli E. Effect of Insulin on Proximal Tubules Handling of Glucose: A Systematic Review. *J Diabetes Res.* 2020;2020. doi:10.1155/2020/8492467
13. Gutiérrez-Rodelo C, Roura-Guiberna A, Olivares-Reyes JA. Mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina: Una actualización. *Gac Med Mex.* 2017;153(2):214-228.
14. Díaz S. Papel de las isoformas del receptor de insulina en la regulación de la homeostasis glucídica y lipídica en un modelo de diabetes experimental. Published online 2017:1.106. <https://eprints.ucm.es/43693/1/T39014.pdf>
15. Samuel VT, Shulman GI. The pathogenesis of insulin resistance: Integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest.* 2016;126(1):12-22. doi:10.1172/JCI77812

16. Visser M, Mcquillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-Reactive Protein Levels. Published online 2015.
17. Ros Pérez M, Medina-Gómez G. Obesidad, adipogénesis y resistencia a la insulina. *Endocrinol y Nutr.* 2011;58(7):360-369. doi:10.1016/j.endonu.2011.05.008
18. Conesa González AI, González Calero TM. Aspectos más recientes en relación con la diabetes mellitus tipo MODY. *Rev Cuba Endocrinol.* 2012;23(2):186-194.
19. Ozougwu O. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Physiol Pathophysiol.* 2013;4(4):46-57. doi:10.5897/jpap2013.0001
20. Kluth O, Mirhashemi F, Scherneck S, et al. Dissociation of lipotoxicity and glucotoxicity in a mouse model of obesity associated diabetes: Role of forkhead box O1 (FOXO1) in glucose-induced beta cell failure. *Diabetologia.* 2011;54(3):605-616. doi:10.1007/s00125-010-1973-8
21. Cano R, Villalobos M, Aguirre M, et al. Tisular Y No Una Enfermedad From Obesity To Diabetes: Insulin-Resistance. Published online 2017.
22. Alam F, Kamal MA, Islam MA, Banu S. Current Genetic and Epigenetic Insights into Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrine, Metab Immune Disord - Drug Targets.* 2019;19(6):717-718. doi:10.2174/187153031906190724104004
23. Suárez-Carmona W, Sánchez-Oliver AJ, González-Jurado JA. Fisiopatología de la obesidad: Perspectiva actual. *Rev Chil Nutr.* 2017;44(3):226-233. doi:10.4067/s0717-75182017000300226
24. Laforest S, Labrecque J, Michaud A, Cianflone K, Tchernof A. Adipocyte size as a determinant of metabolic disease and adipose tissue dysfunction. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2015;52(6):301-313. doi:10.3109/10408363.2015.1041582
25. Kolodziejczyk AA, Zheng D, Elinav E. Diet–microbiota interactions and personalized nutrition. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(12):742-753. doi:10.1038/s41579-019-0256-8
26. Devaraj S, Hemarajata P, Versalovic J. La microbiota intestinal humana y el metabolismo corporal: Implicaciones con la obesidad y la diabetes. *Acta Bioquim Clin Latinoam.* 2013;47(2):421-434.
27. Palau-Rodriguez M, Tulipani S, Queipo-Ortuño MI, Urpi-Sarda M, Tinahones FJ, Andres-Lacueva C. Metabolomic insights into the intricate gut microbial-host interaction in the development of obesity and type 2 diabetes. *Front Microbiol.* 2015;6(OCT):1-12. doi:10.3389/fmicb.2015.01151
28. Tilg H, Moschen AR. Microbiota and diabetes: An evolving relationship. *Gut.* 2014;63(9):1513-1521. doi:10.1136/gutjnl-2014-306928
29. Larsen N, Vogensen FK, Van Den Berg FWJ, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One.* 2010;5(2). doi:10.1371/journal.pone.0009085
30. Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Bäckhed F. Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling. *Cell Metab.* 2015;22(4):658-668. doi:10.1016/j.cmet.2015.07.026
31. Sliwinska-Mosson M, Milnerowicz H. The impact of smoking on the development of diabetes and its complications. *Diabetes Vasc Dis Res.* 2017;14(4):265-276. doi:10.1177/1479164117701876
32. López Zubizarreta M, Hernández Mezquita MÁ, Miralles García JM, Barrueco Ferrero M. Tobacco and diabetes: clinical relevance and approach to smoking cessation in diabetic smokers. *Endocrinol Diabetes y Nutr.* 2017;64(4):221-231. doi:10.1016/j.endinu.2017.02.010
33. Besingi W, Johansson Å. Smoke-related DNA methylation changes in the etiology of human disease. *Hum Mol Genet.* 2014;23(9):2290-2297. doi:10.1093/hmg/ddt621

34. Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *Lancet.* 2017;389(10085):2239-2251. doi:10.1016/S0140-6736(17)30058-2
35. Risk NCD, Collaboration F. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet* (London, England). 2016;387(10027):1513-1530. doi:10.1016/S0140-6736(16)00618-8
36. Fu Z, R. Gilbert E, Liu D. Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes. *Curr Diabetes Rev.* 2012;9(1):25-53. doi:10.2174/15733998130104
37. Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: From pathophysiology to prevention and management. *Lancet.* 2011;378(9786):169-181. doi:10.1016/S0140-6736(11)60614-4
38. Corkey BE. Banting lecture 2011: Hyperinsulinemia: Cause or consequence? *Diabetes.* 2012;61(1):4-13. doi:10.2337/db11-1483
39. Jeffrey KD, Alejandro EU, Luciani DS, et al. Carboxypeptidase E mediates palmitate-induced β -cell ER stress and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(24):8452-8457. doi:10.1073/pnas.0711232105
40. Staaf J, Ubhaysekera SJKA, Sargsyan E, et al. Initial hyperinsulinemia and subsequent β -cell dysfunction is associated with elevated palmitate levels. *Pediatr Res.* 2016;80(2):267-274. doi:10.1038/pr.2016.80
41. Vincent Poitout, Julie Amyot, Meriem Semache, Bader Zarrouki, Derek Hagman GF. Glucolipotoxicity of pancreatic beta cells. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801(3):289–298. doi:10.1016/j.bbalip.2009.08.006.Glucolipotoxicity
42. McCormack SE, Shaham O, McCarthy MA, et al. Circulating branched-chain amino acid concentrations are associated with obesity and future insulin resistance in children and adolescents. *Pediatr Obes.* 2013;8(1):52-61. doi:10.1111/j.2047-6310.2012.00087.x
43. Thomas J. Wang, Martin G. Larson, Ramachandran S. Vasan, Susan Cheng, Eugene P. Rhee, Elizabeth McCabe, Gregory D. Lewis, Caroline S. Fox, Paul F. Jacques, Céline Fernandez, Christopher J. O'Donnell, Stephen A. Carr, Vamsi K. Mootha, Jose C. Florez, Amand CB, Clish and REG. Metabolite profiles and diabetes. *Nat Med.* 2011;17(4):448-453. doi:10.1038/nm.2307. Metabolite
44. Giri B, Dey S, Das T, Sarkar M, Banerjee J, Dash SK. Chronic hyperglycemia mediated physiological alteration and metabolic distortion leads to organ dysfunction, infection, cancer progression and other pathophysiological consequences: An update on glucose toxicity. *Biomed Pharmacother.* 2018;107(April):306-328. doi:10.1016/j.bioph.2018.07.157
45. Maletkovic J, Drexler A. Diabetic Ketoacidosis and Hyperglycemic Hyperosmolar State. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2013;42(4):677-695. doi:10.1016/j.ecl.2013.07.001
46. Cepas V, Collino M, Mayo JC, Sainz RM. Redox signaling and advanced glycation endproducts (AGEs) in diet-related diseases. *Antioxidants.* 2020;9(2):1-20. doi:10.3390/antiox9020142
47. Perrone A, Giovino A, Benny J, Martinelli F. Advanced Glycation End Products (AGEs): Biochemistry, Signaling, Analytical Methods, and Epigenetic Effects. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020(Cml). doi:10.1155/2020/3818196
48. Mosquera JA. Papel del receptor para compuestos de glicosilación avanzada (RAGE) en la inflamación. *Invest Clin.* 2010;51(2):257-268.
49. L. Díaz-Casasola DL-P. Productos finales de glicación avanzada. *Med e Investig.* 2016;4(1):52-57.
50. Teissier T, Boulanger É. The receptor for advanced glycation end-products (RAGE) is an important pattern recognition receptor (PRR) for inflamming. *Biogerontology.* 2019;20(3):279-301. doi:10.1007/s10522-019-09808-3

51. Olmos PR, Niklitschek S, Olmos RI, et al. Bases fisiopatológicas para una clasificación de la neuropatía diabética A new physiopathological classification of diabetic neuropathy. *artículo revisión rev Med chile.* 2012;140:1593-1605.
52. Hammes HP. Diabetic retinopathy: hyperglycaemia, oxidative stress and beyond. *Diabetologia.* 2018;61(1):29-38. doi:10.1007/s00125-017-4435-8
53. Umanath K, Lewis JB. Update on Diabetic Nephropathy: Core Curriculum 2018. *Am J Kidney Dis.* 2018;71(6):884-895. doi:10.1053/j.ajkd.2017.10.026
54. Meza Letelier CE, San Martín Ojeda CA, Ruiz Provoste JJ, Frugone Zaror CJ. Pathophysiology of diabetic nephropathy: a literature review. *Medwave.* 2017;17(1):e6839. doi:10.5867/medwave.2017.01.6839
55. Matoba K, Takeda Y, Nagai Y, Kawanami D, Utsunomiya K, Nishimura R. Unraveling the role of inflammation in the pathogenesis of diabetic kidney disease. *Int J Mol Sci.* 2019;20(14). doi:10.3390/ijms20143393
56. Shraim BA, Moursi MO, Benter IF, Habib AM, Akhtar S. The Role of Epidermal Growth Factor Receptor Family of Receptor Tyrosine Kinases in Mediating Diabetes-Induced Cardiovascular Complications. *Front Pharmacol.* 2021;12(August):1-23. doi:10.3389/fphar.2021.701390
57. Tervaert TWC, Mooyaart AL, Amann K, et al. Pathologic classification of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(4):556-563. doi:10.1681/ASN.2010010010
58. Botas Velasco M, Cervell Rodríguez D, Rodríguez Montalbán AI, Vicente Jiménez S, Fernández de Valderrama Martínez I. An update on the diagnosis, treatment and prevention of diabetic peripheral neuropathy. *Angiología.* 2017;69(3):174-181. doi:10.1016/j.angio.2016.06.005
59. Vinik AI, Nevoret ML, Casellini C, Parson H. Diabetic Neuropathy. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2013;42(4):747-787. doi:10.1016/j.ecl.2013.06.001
60. Yu Y, Zhou Z, Sun K, et al. Association between coronary artery atherosclerosis and plasma glucose levels assessed by dual-source computed tomography. *J Thorac Dis.* 2018;10(11):6050-6059. doi:10.21037/jtd.2018.10.62
61. Barrett TJ. Macrophages in Atherosclerosis Regression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020;40(1):20-33. doi:10.1161/ATVBAHA.119.312802
62. Moore KJ, Tabas I. The Cellular Biology of Macrophages in Atherosclerosis. *Cell.* 2011;145(3):341-355. doi:10.1016/j.cell.2011.04.005.The
63. Martín-Timón I. Type 2 diabetes and cardiovascular disease: Have all risk factors the same strength? *World J Diabetes.* 2014;5(4):444. doi:10.4239/wjd.v5.i4.444
64. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res.* 2010;107(9):1058-1070. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.223545
65. Geraldes P, King GL. Emission security- Tempest Attacks. *Circ Res.* 2010;106(8):1319-1331. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.217117.Activation
66. Cruz Hernández J, no Licea Puig ME, ar Hernández García P, is Yanes Quesada M. Aldosa reductasa y proteína quinasa C en las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. *Rev Latinoam Patol Clínica y Med Lab.* 2011;58(2):102-107.
67. Mu EG, Ang M, Escorza Q. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *REB Rev Educ bioquímica.* 2013;32(2):53-66.
68. Carvajal Carvajal C. Productos finales de glicación (AGES) y la nefropatía diabética. *Med Leg Costa Rica.* 2015;32(1):154-160.
69. Muntoni S, Muntoni S. Insulin resistance: Pathophysiology and rationale for treatment. *Ann Nutr Metab.* 2011;58(1):25-36. doi:10.1159/000323395
70. Bornfeldt K, Tabas I. Insulin Resistance, Hyperglycemia, and Atherosclerosis. *Bone.* 2011;23(1):1-20. doi:10.1016/j.cmet.2011.07.015.Insulin
71. Basal Insulin and Cardiovascular and Other Outcomes in Dysglycemia. *N Engl J Med.* 2012;367(4):319-328. doi:10.1056/nejmoa1203858
72. Goldberg I, Schulze C. Lipid Metabolism and Toxicity in the Heart. *Cell metab.* 2012;23(1):1-16. doi:10.1016/j.cmet.2012.04.006.Lipid

73. Moghetti P, Tosi F, Bonin C, et al. Divergences in insulin resistance between the different phenotypes of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(4):628-637. doi:10.1210/jc.2012-3908
74. Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: An update on mechanisms and implications. *Endocr Rev.* 2012;33(6):981-1030. doi:10.1210/er.2011-1034
75. Hazlehurst JM, Woods C, Marjot T, Cobbold JF, Tomlinson JW. Non-alcoholic fatty liver disease and diabetes. *Metabolism.* 2016;65(8):1096-1108. doi:10.1016/j.metabol.2016.01.001
76. Ramos-Molina B, Macías-González M, TINAHONES F. Hígado graso no alcohólico y diabetes tipo 2: epidemiología, fenotipo y fisiopatología del paciente con diabetes e hígado graso no alcohólico. *Endocrinol Diabetes y Nutr.* 2017;1(Supl.2):16-20.
77. Hamdy O, Barakatun-Nisak MY. Nutrition in Diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2016;45(4):799-817. doi:10.1016/j.ecl.2016.06.010
78. Carvallo P, Carvallo E, Barbosa-Da-Silva S, Mandarim-De-Lacerda CA, Hernández A, Del Sol M. Metabolic effects of excessive fructose consumption added. *Int J Morphol.* 2019;37(3):1058-1066. doi:10.4067/S0717-95022019000301058
79. Huhmann MB, Yamamoto S, Neutel JM, Cohen SS, Ochoa Gautier JB. Very high-protein and low-carbohydrate enteral nutrition formula and plasma glucose control in adults with type 2 diabetes mellitus: a randomized crossover trial. *Nutr Diabetes.* 2018;8(1). doi:10.1038/s41387-018-0053-x
80. Chiu THT, Pan WH, Lin MN, Lin CL. Vegetarian diet, change in dietary patterns, and diabetes risk: A prospective study. *Nutr Diabetes.* 2018;8(1). doi:10.1038/s41387-018-0022-4
81. Henry CJ, Kaur B, Quek RYC. Chrononutrition in the management of diabetes. *Nutr Diabetes.* 2020;10(1). doi:10.1038/s41387-020-0109-6
82. Vetrivel Venkatasamy V, Pericherla S, Manthuruthil S, Mishra S, Hanno R. Effect of physical activity on insulin resistance, inflammation and oxidative stress in diabetes mellitus. *J Clin Diagnostic Res.* 2013;7(8):1764-1766. doi:10.7860/JCDR/2013/6518.3306
83. Hernández J, Licea M. Role of physical exercise in persons presenting with diabetes mellitus. *Rev Cuba Endocrinol.* 2010;2(1):1-20. doi:10.1177/026988110101500107
84. Márquez J, Suárez R. El ejercicio en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Argent Endocrinol Metab.* 2012;48(4):1-10. doi:10.1016/S0304-5412(12)70482-1
85. Strasser B. Physical activity in obesity and metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 2013;1281(1):141-159. doi:10.1111/j.1749-6632.2012.06785.x
86. Van Proeyen K, Szlufcik K, Nielens H, et al. Training in the fasted state improves glucose tolerance during fat-rich diet. *J Physiol.* 2010;588(21):4289-4302. doi:10.1113/jphysiol.2010.196493
87. Cahn A, Miccoli R, Dardano A, Del Prato S. New forms of insulin and insulin therapies for the treatment of type 2 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015;3(8):638-652. doi:10.1016/S2213-8587(15)00097-2
88. Sanchez-Rangel E, Inzucchi SE. Metformin: clinical use in type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2017;60(9):1586-1593. doi:10.1007/s00125-017-4336-x
89. Hostalek U, Gwilt M, Hildemann S. Therapeutic Use of Metformin in Prediabetes and Diabetes Prevention. *Drugs.* 2015;75(10):1071-1094. doi:10.1007/s40265-015-0416-8
90. Pernicova I, Korbonits M. Metformin-Mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(3):143-156. doi:10.1038/nrendo.2013.256
91. Griffin SJ, Angelyn Bethel M, Holman RR, et al. Metformin in non-diabetic hyperglycaemia: The glint feasibility RCT. *Health Technol Assess (Rockv).* 2018;22(18). doi:10.3310/hta22180

92. Infante M, Leoni M, Caprio M, Fabbri A. Long-term metformin therapy and vitamin B12 deficiency: an association to bear in mind. *World J Diabetes*. 2021;12(7):916-931. doi:10.4239/wjd.v12.i7.916
93. Gilbert MP, Pratley RE. GLP-1 Analogs and DPP-4 Inhibitors in Type 2 Diabetes Therapy: Review of Head-to-Head Clinical Trials. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11(April):1-13. doi:10.3389/fendo.2020.00178
94. Alfonso Figueredo E, Reyes Sanamé FA, Pérez Álvarez ML, Batista Acosta Y, Peña Garcell Y. Inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 y una nueva estrategia farmacológica en la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Cubana Med*. 2016;55(3):239-256.
95. Carmen DRA, Aylwin G. Nuevos Fármacos En Diabetes Mellitus New Drugs for Treatment of Diabetes Mellitus. *Rev Clínica Las Condes*. 2016;27(2):235-256.
96. Ministerio de Salud Chile. Guía Práctica Clínica Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. *Rev Panam Salud Pública*. 2017;5(1):15-36. http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/718_GPC_Tratamiento_de_diabetes_mellitus_tipo_2_/718GER.pdf
97. Kalra S, Bahendeka S, Sahay R, et al. Consensus recommendations on sulfonylurea and sulfonylurea combinations in the management of Type 2 diabetes mellitus - International Task Force. *Indian J Endocrinol Metab*. 2018;22(1):132-157. doi:10.4103/ijem.IJEM_556_17
98. Colagiuri S, Matthews D, Leiter LA, Chan SP, Sesti G, Marre M. The place of gliclazide MR in the evolving type 2 diabetes landscape: A comparison with other sulfonylureas and newer oral antihyperglycemic agents. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018;143:1-14. doi:10.1016/j.diabres.2018.05.028
99. Nair S, Wilding JPH. Sodium glucose cotransporter 2 inhibitors as a new treatment for diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(1):34-42. doi:10.1210/jc.2009-0473
100. Fitchett D, Zinman B, Wanner C, et al. Heart failure outcomes with empagliflozin in patients with type 2 diabetes at high cardiovascular risk: Results of the EMPA-REG OUTCOME® trial. *Eur Heart J*. 2016;37(19):1526-1534. doi:10.1093/euroheartj/ehv728
101. Baartscheer A, Schumacher CA, Wüst RCI, et al. Empagliflozin decreases myocardial cytoplasmic Na⁺ through inhibition of the cardiac Na⁺/H⁺ exchanger in rats and rabbits. *Diabetologia*. 2017;60(3):568-573. doi:10.1007/s00125-016-4134-x
102. Neal B, Perkovic V, Mahaffey KW, et al. Canagliflozin and Cardiovascular and Renal Events in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2017;377(7):644-657. doi:10.1056/nejmoa1611925
103. McMurray JJV, Solomon SD, Inzucchi SE, et al. Dapagliflozin in patients with heart failure and reduced ejection fraction. *N Engl J Med*. 2019;381(21):1995-2008. doi:10.1056/NEJMoa1911303

Determinantes sociales de la falta de adherencia al tratamiento de la tuberculosis en migrantes venezolanos en Colombia, 2018-2019

Social determinants of non adherence to tuberculosis treatment in venezuelan migrant population in Colombia, 2018-2019

Paola Andrea Ceballos Betancur¹, Jaqueline Acero Medina², Alejandra Ramirez Martínez³, Fabio Alberto Escobar Díaz⁴

Resumen

Introducción. La falta de adherencia al tratamiento de la Tuberculosis (TB) por parte de la población migrante venezolana en Colombia, se ha convertido en un problema de salud pública. Esto se explica por un conjunto de barreras que impiden una adherencia terapéutica exitosa de estos pacientes que son importantes de reconocer. **Objetivo.** Identificar los Determinantes Sociales de la Salud (DSS) que impidieron la adherencia al tratamiento de la TB en la población migrante venezolana atendida durante el período 2018-2019 en la Subred Centro Oriente de la ciudad de Bogotá D.C. **Metodología.** Estudio cuantitativo descriptivo en la ciudad de Bogotá D.C., muestra no probabilística, compuesta por 19 migrantes venezolanos, 12 hombres y 7 mujeres, quienes fueron diagnosticados y notificados con TB pulmonar. **Resultados.** El acompañamiento y apoyo familiar inciden en una mayor probabilidad de adherencia al tratamiento; así mismo las variables de ocupación, afectación laboral y gastos extras, sorpresivamente como el desempleo mejoran la adherencia al tratamiento. Se infiere que la ausencia de vinculación laboral aumenta la disponibilidad de tiempo para acudir a las instituciones y recibir un tratamiento efectivo.

Palabras claves: tuberculosis, cumplimiento y adherencia al tratamiento, migración humana, determinantes sociales de la salud.

1. Terapeuta Respiratoria. Maestría en Salud Pública y Desarrollo Social. Fundación Universitaria del Área Andina.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2295-8418>

2. Terapeuta Respiratoria. Maestría en Salud Pública y Desarrollo Social. Fundación Universitaria del Área Andina.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0813-6194>

3. Enfermera. Maestría en Salud Pública y Desarrollo Social. Fundación Universitaria del Área Andina.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5241-5767>

4. Sociólogo, Magíster y Doctor en Salud Pública. Maestría en Salud Pública y Desarrollo Social, Fundación Universitaria del Área Andina.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4721-2209>

Correo electrónico de correspondencia: paola.ceballos.b@gmail.com - paandrea@estudiantes.areandina.edu.co

► <https://doi.org/10.22490/24629448.6185>

Recibido: 15/02/2022
Aceptado: 07/07/2022

Abstract

Introduction. The lack of adherence to tuberculosis (TB) treatment by the Venezuelan migrant population in Colombia has become a public health problem. This is explained by a set of barriers that prevent the successful adherence of these patients, which are important to recognize. **Objective.** To identify the Social Determinants of Health (SDH) that prevented adherence to TB treatment in the Venezuelan migrant population attended during the period 2018-2019 in the Subred Centro Oriente of the city of Bogotá D.C. **Methodology.** Descriptive quantitative study in the city of Bogotá D.C., non-probabilistic sample, composed of 19 Venezuelan migrants, 12 men and 7 women, who were diagnosed and notified with pulmonary TB. **Results.** Accompaniment and family support have an impact on a greater probability of adherence to treatment; likewise, the variables of occupation, work involvement, and extra expenses, surprisingly, as well as unemployment, improve adherence to treatment. It is inferred that the absence of employment increases the availability of time to go to the institutions and receive effective treatment.

Keywords: Tuberculosis, human migration, treatment adherence and compliance, social determinants of health.

Introducción

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa que suele afectar a los pulmones y es causada por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*. Se transmite de una persona a otra a través de gotitas de aerosol suspendidas en el aire, expulsadas por personas con enfermedad pulmonar activa. La infección por TB suele ser asintomática en personas sanas, dado que su sistema inmunitario actúa formando una barrera alrededor de la bacteria. Los síntomas de la TB pulmonar activa son: tos, a veces con espuma que puede ser sanguinolento, dolor torácico, debi-

lidad, pérdida de peso, fiebre y sudoración nocturna (1).

Con un diagnóstico oportuno y tratamiento con antibióticos de primera línea durante seis meses, la mayoría de las personas enfermas de TB pueden curarse y la transmisión de la infección puede frenarse, pero aun siendo curable cuando se instituye el tratamiento adecuado, sigue siendo un grave problema de salud pública mundial. En 2017, 10 millones de personas enfermaron de TB en todo el mundo, de ellas, 1,3 millones murieron debido a complicaciones de la enfermedad (2).

Teniendo este contexto, y considerando la Estrategia Mundial de la Organización Mundial de la Salud contra la TB 2016 -2035, en el marco de la eliminación de esta enfermedad, se establecen objetivos a nivel nacional, regional y global con el propósito de ponerle fin para el año 2035 (2). En Colombia, a través del Ministerio de Salud y Protección Social (MSPS), en su objetivo de responder a los compromisos adquiridos para adoptar la Estrategia Mundial. El Plan Estratégico Colombia Hacia el Fin de la Tuberculosis, 2016 – 2025 busca reducir el 50% de la incidencia, el 75% de la mortalidad y el 60 % de los costos catastróficos causados por la TB a 2025; para lograr estas metas se cuenta con instrumentos de política como el Plan Decenal de Salud Pública 2012-2021, la Ley Estatutaria en Salud de 2015, la Política de Atención Integral en Salud (PAIS) y el Modelo de Acción Integral Territorial (MAITE) (3).

El Plan Estratégico Colombia Hacia el Fin de la Tuberculosis en su línea de estrategia de prevención y atención integral, prioriza la captación de sintomáticos respiratorios en todas las poblaciones incluyendo aquellos en situación de vulnerabilidad. El sistema de vigilancia en salud pública debe profundizar a nivel territorial en la caracterización de las personas afectadas por TB para conocer quiénes son, dónde viven y cuáles son los determinantes de sus condiciones de salud; adicionalmente, con el enfoque diferencial, se puede calificar la prioridad de las inter-

venciones a grupos sociales con condiciones particulares y de mayor vulnerabilidad (3).

Como resultado de la situación política, socioeconómica y de derechos humanos en la República Bolivariana de Venezuela, se ha dado lugar al mayor movimiento de refugiados y migrantes en la historia reciente de América Latina y el Caribe. Colombia es el país más afectado por la llegada de personas provenientes de este país. A finales del 2015, Colombia acogió a menos de 40.000 personas venezolanas, un número que ha crecido más del 3.500%, llegando más de 1,4 millones de personas en agosto de 2019 (4).

Como se ha reconocido, en Venezuela hay una importante falta de respuesta a las necesidades de salud pública como la vacunación, fumigación, control de vectores, etc. (5), sumado a esto, el frecuente desplazamiento de la población migrante por el territorio nacional, ha generado la reactivación de enfermedades como el sarampión y la rubeola. Bajo estas condiciones, en las que la población migrante se desplaza por el territorio, según el Departamento Nacional de Planeación, aquellos migrantes desde Venezuela que cumplen los requisitos para afiliarse en el régimen contributivo o subsidiado de salud acceden a los servicios mediante el aseguramiento de lo contrario, mediante la atención por evento en la red pública financiada con recursos de oferta (6). Aunque los esfuerzos por garantizar la atención de la población migrante mejoran

con el aumento de los programas de protección al migrante, es necesario cuestionarse sobre las variables que se podrían considerar en el marco de este fenómeno social, por ejemplo, la reactivación de otras enfermedades.

Por consiguiente, es imprescindible cuestionarse sobre la relación entre el aumento de la población migrante en nuestro territorio y un posible aumento de la propagación de la TB en hospitales públicos, que son los que atienden principalmente a este grupo. Según un informe del MSPS (7), sobre el impacto del fenómeno migratorio para el sector salud, entre el año 2017 al 2019, se habían reportado 3.968.315 atenciones en salud de migrantes procedentes de Venezuela y 550.904 personas atendidas.

El fenómeno migratorio de población venezolana en Colombia para el año 2019 reportaba 742.390 migrantes regulares y 665.665 migrantes irregulares; con afiliación al Sistema General de Seguridad Social en Salud (SGSSS) se reportaron 158.829 migrantes venezolanos (8).

El tránsito de esta población migratoria por varios departamentos de Colombia es reflejado en las atenciones en salud; en Bogotá, por ejemplo, se reportaron 613.338 atenciones en salud, y a nivel nacional de los principales eventos de interés en salud pública fue la notificación de TB con 21 casos para el año 2017, 107 en el 2018 y 324 casos

para el año 2019 con corte en el periodo epidemiológico 52, como se evidencia en el Boletín Fronteras Eventos de Interés en Salud Pública del Instituto Nacional de Salud (INS) (9).

El aumento de casos reportados de esta enfermedad y su relación con la población migrante, ha sido estudiado por otros investigadores como Castelli y Sulis (10), Barbero (11), y Maurera (12), sus estudios han arrojado datos importantes sobre la relación entre la duración del tratamiento y la adherencia a este. Los tratamientos, de naturaleza farmacológica, asociados a la enfermedad son largos y rigurosos: el tratamiento estándar de la TB pulmonar comprende 2 meses de terapia con isoniazida (INH) rifampicina (RMP), etambutol (EMB) y pirazina - amida (PZA), seguida directamente de otros 4 meses de meses de administración dual de RMP e INH; las formas extrapulmonares y diseminadas de TB extrapulmonar y diseminada requiere a veces un tratamiento más prolongado; la TB de los ganglios linfáticos, 6 meses; la TB articular u ósea 9 meses; TB del sistema nervioso central, 12 meses (13).

La OMS (14) define la adherencia al tratamiento como el cumplimiento de este; es decir, tomar la medicación de acuerdo con la dosificación del programa prescrito; y la persistencia, tomar la medicación a lo largo del tiempo. La adherencia al tratamiento de la TB en población migrante venezolana en nuestro país se ha situado como un proble-

ma no solo del sistema sanitario sino también del contexto social o económico de los pacientes. Es por ello que se deben identificar las barreras que impiden una adherencia terapéutica exitosa.

La falta de adherencia terapéutica puede estar asociada a diversos Determinantes Sociales de la Salud (DSS), entendiéndose como los determinantes estructurales y las condiciones de vida que son causa de buena parte de las inequidades sanitarias entre los países y dentro de cada país. Se trata en particular de: la distribución del poder, los ingresos y los bienes y servicios; las circunstancias que rodean la vida de las personas, tales como el acceso a la atención sanitaria, la escolarización y la educación; sus condiciones de trabajo y ocio; y el estado de su vivienda y entorno físico. Los determinantes sociales resumen el conjunto de factores sociales, políticos, económicos, ambientales y culturales que ejercen gran influencia en el estado de salud (15).

Por consiguiente, los gastos y el tiempo de desplazamiento a los centros de salud u hospitalares para recibir el tratamiento, los permisos o inasistencia a su trabajo, el apoyo emocional o familiar, el nivel educativo, el género, entre otros, pueden afectar la adherencia al tratamiento y así mismo varía de uno a otro a lo largo de la misma enfermedad.

El tratamiento de la TB requiere de adherencia al tratamiento farmacológico (13), de

lo contrario, la Mycobacterium tuberculosis que aún se encuentre activa al momento de suspender el tratamiento puede volverse resistente a los medicamentos y así prolongar el tratamiento, hacerlo más difícil y costoso.

Así, el objetivo de este estudio fue identificar los determinantes sociales que impidieron la adherencia al tratamiento de la TB en la población migrante venezolana atendida durante el periodo 2018-2019 en la Subred Centro Oriente de la ciudad de Bogotá D.C.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio cuantitativo descriptivo en la ciudad de Bogotá D.C. La población del estudio fueron migrantes venezolanos portadores de TB pulmonar, identificados mediante la notificación obligatoria de eventos de interés en salud pública, de 11 Unidades Primarias Generadoras de Datos (UPGD) recopilados en base de datos del Hospital Santa Clara de la Subred Centro Oriente durante el periodo 2018-2019.

A partir de esta base de datos se seleccionó una muestra no probabilística, compuesta por 19 migrantes venezolanos, 12 hombres y 7 mujeres, quienes fueron diagnosticados y notificados por las 11 UPGD con TB pulmonar.

Para establecer la adherencia al tratamiento se usó la base de datos disponible del Hospi-

tal Santa Clara, donde se recopilaron características sociodemográficas de los pacientes como edad, sexo, régimen de afiliación (vinculado, subsidiado o contributivo), ocupación, localidad de residencia, modalidad de vivienda (arriendo, paga diario, institución de salud), círculo familiar y escolaridad.

Se agruparon los resultados por variables y se clasificaron en 2 grupos (grupo adherente y no adherente) para estudiar si existían diferencias estadísticamente significativas entre estos 2 grupos en las variables asociadas a los DSS. Se utilizó el método t de Student para variables continuas y Chi-cuadrado para las variables categóricas. Por último, para comprobar qué variables se asociaban independientemente con la adherencia al tratamiento se realizó un análisis de regre-

sión logística binaria, donde la variable dependiente fue la adherencia al tratamiento y como variables independientes se incluyeron aquellas para las que se encontraron diferencias significativas entre los grupos adherentes / no adherentes.

Resultados

Se usaron como categorías las preguntas asociadas a los DSS de los pacientes. Del total de pacientes (n=19), se clasificaron entre el grupo adherente (n=6); y el grupo no adherente (n=13). Se sistematizaron los datos y de filtraron en las variables asociadas a los DSS que se consideraron significativas (ver tabla 1).

Tabla 1. Comparación de los Determinantes Sociales asociados a la TB entre el grupo de pacientes con adherencia al tratamiento y el grupo sin adherencia.

Variables		Muestra (n=19)	Grupo adherente (n=6)	Grupo no adherente (n=6)
Edad promedio		31,31	30,62	31,38
Lugar de nacimiento	Venezuela	19	6	13
Sexo	Masculino	12	4	8
	Femenino	7	2	5
Localidad donde vive	Martires	3	1	2
	Candelaria	2	1	1
	Santa Fé	3	0	3
	Antonio Nariño	1	0	1
	Rafael Uribe	5	2	3
	San Cristobal	5	2	3

Variables		Muestra (n=19)	Grupo adherente (n=6)	Grupo no adherente (n=6)
Modalidad de vivienda	Arriendo	14	6	8
	Paga diario	2	0	2
	Institución distrital	2	0	2
	No reporta	1	0	1
Régimen de afiliación	Vinculado	16	5	11
	Contributivo	1	0	1
	Subsidiado	2	1	1
Administradora	Capital salud	1	1	0
	Famisanar	1	0	1
	Gobernación Guainía	1	0	1
	Fondo financiero	16	5	11
Ocupación	Auxiliar de carga	1	0	1
	Desempleado	7	4	3
	Estilista	1	0	1
	Hogar	3	0	3
	Menor	1	0	1
	Niñera	1	0	1
	Obrero	1	0	1
	Operario	1	0	1
	Vendedor	1	0	1
Quién lo acompaña	Vendedor ambulante	2	2	0
	Mamá	3	0	3
	Hermano/a	1	0	1
	Esposa/o	2	0	2
	Nadie	6	1	5
	Cuñado	1	1	0
	Hija/o	5	4	1
	No reporta	1	0	1

Variables		Muestra (n=19)	Grupo adherente (n=6)	Grupo no adherente (n=6)
Ha incurrido en gastos extra	Si	6	0	6
	No	10	6	4
	No reporta	3	0	3
Hay apoyo familiar	Si	11	6	5
	No	8	0	8
Ha cambiado su rutina	Si	11	0	11
	No	8	6	2
Ha afectado su situación laboral	Si	12	6	6
	No	4	0	4
	No reporta	3	0	3
Escolaridad	Primaria completa	3	3	0
	Primaria incompleta	2	0	2
	Secundaria completa	6	3	3
	Secundaria incompleta	2	0	2
	Sin estudio	1	0	1
	Técnico	1	0	1
	Universidad completa	1	0	1
	Sin información	3	0	3

Fuente: Elaboración propia.

Régimen de afiliación

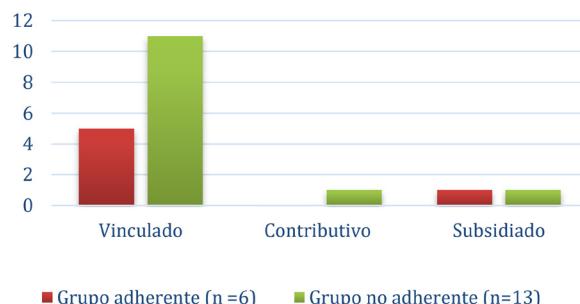


Figura 1: Régimen de afiliación, y comparación por grupo adherente y grupo no adherente al tratamiento.

Fuente: Elaboración propia.

De los 19 datos recuperados en la variable de régimen de afiliación (Figura 1), 5 de los 6 casos de adherencia se encuentran en la modalidad de vinculado, a este régimen pertenecen todas aquellas personas que por

motivos de incapacidad de pago y mientras logran ser beneficiarios del régimen subsidiado, tienen derecho a servicios de atención de salud en instituciones públicas.



Figura 2: Administradora clasificada por grupo adherente y no adherente.
Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a la variable de administración en salud (figura 2), la variable de administradora de salud, 5 de los 6 casos de adherencia se encuentran en el Fondo Financiero Dis-

trital de Salud, quien se encarga de brindar servicios de salud a población vulnerable no afiliada.



Figura 3: Comparación por grupo adherente y no adherente según su ocupación.
Fuente: Elaboración propia.

Por otra parte, en la variable de ocupación (figura 3), 4 de los 6 casos de adherencia se encuentran en la categoría de desempleo, los otros 2 en la categoría vendedor ambulante. Al asociar esta variable con las variables de afectación laboral o consideración de gastos

extra en el tratamiento podríamos conjeturar que se requiere de una significativa consideración del tiempo laboral para asistir a los tratamientos suministrados, por tanto, estar en situación de desempleo podría favorecer la asistencia a los tratamientos.

Afectación laboral

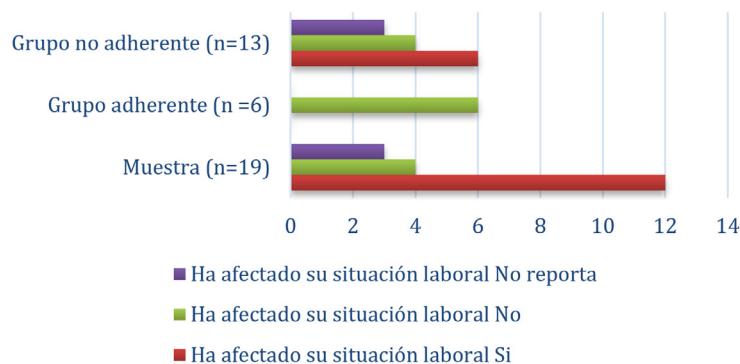


Figura 4: Afectación a la vida laboral durante el tratamiento según grupo adherente y no adherente.

Fuente: Elaboración propia.

Con respecto a la variable afectación laboral (figura 4), los datos en el grupo no adherente tienen un comportamiento homogéneo, sin embargo, en el grupo adherente los datos son contundentes, los 6 datos están en la catego-

ría de no afectación, recordemos que 4 del grupo adherente se encuentran en condición de desempleo y dos son vendedores ambulantes.

Gastos extra

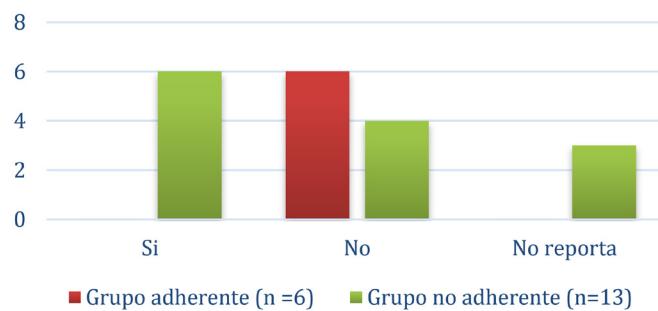


Figura 5: Gastos extra asumidos por el paciente durante el tratamiento por grupo adherente y grupo no adherente.

Fuente: Elaboración propia.

En relación con la afectación laboral, la variable gastos extras arroja resultados interesantes, los 6 casos que se adhieren al tratamiento terminan asegurando que el tratamiento no ha generado gastos extras (figura 5), en su situación económica. Creemos que no tener trabajos fijos puede beneficiar la no afectación económica en este tipo de población, debido a que no tienen una obli-

gación laboral por lo tanto pueden ajustar sus actividades diarias y acudir sin contratiempos a recibir la medicación. En cuanto a los pacientes que reportan haber asumido gastos extra consideramos que podrían estar asociados a gastos de desplazamiento para asistir a la institución y posteriormente cumplir con sus obligaciones laborales.

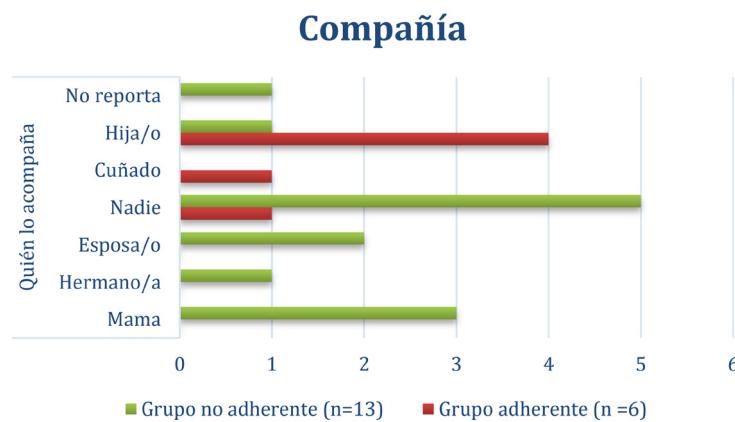


Figura 6: Acompañamiento al momento de recibir el tratamiento.

Fuente: Elaboración propia.

Otra variable que presenta datos interesantes es quien lo acompaña (figura 6), 4 de los 6 datos de adherencia al tratamiento están en

la categoría de hijo/hija, también, 5 de los 13 datos de no adherencia están en la categoría de nadie acompaña.

Apoyo familiar

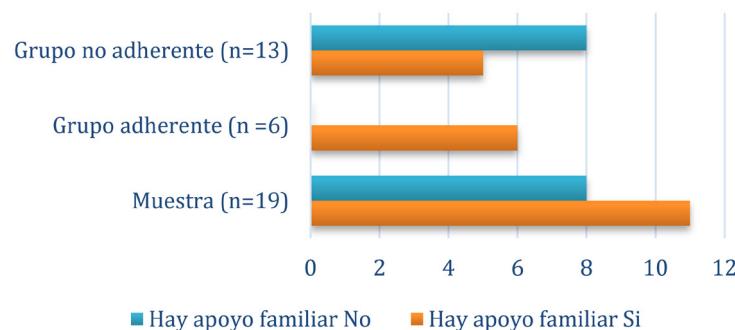


Figura 7: Apoyo familiar por grupo adherente y no adherente.

Fuente: Elaboración propia.

Al intentar relacionar la variable apoyo familiar, observamos que el grupo adherente, los 6 datos reflejan la existencia de apoyo familiar en el tratamiento. Creemos que los datos en estas variables nos permiten sugerir que una compañía bien sea familiar o asistencial para este tipo de población, puede significar una mayor adherencia al tratamiento.

Discusión

El objetivo de este estudio fue identificar los determinantes sociales que impidieron la adherencia al tratamiento de la TB en la población migrante venezolana, a través de un diseño metodológico cuantitativo y descriptivo, con una muestra no probabilística.

En nuestro estudio, a partir de la consolidación de los datos de la Subred Centro Oriente, se logró identificar que los determinantes sociales que incidieron en la no adherencia al tratamiento se reflejaron en un número significativo de migrantes. Durante el tratamiento manifestaron afectaciones en su vida laboral, cambios en su rutina diaria y un número no menos relevante, incurrió en gastos adicionales. De igual manera fue importante analizar el contexto educativo como asociación directa a las oportunidades laborales, principalmente porque los trabajadores presentan dificultades para lograr acceder al tratamiento, en horas laborales, que coinciden con los horarios institucionales donde reciben su medicación. Asimis-

mo, el grado de conocimiento y capacidad de búsqueda de un buen nivel de salud, se suma a su condición de migrante.

De igual manera se pudo evidenciar la falta de vivienda propia, que conlleva a que esta población tenga que vivir en arriendo, en instituciones de salud esperando la ubicación de un hogar, o el llamado paga diario por habitación, situación que está ligada a la pobreza; un 73,7% de ellos se encontraban desempleados, tenían trabajos esporádicos o simplemente sus ingresos eran al día.

Los resultados lograron identificar cómo el acompañamiento y apoyo familiar inciden en una mayor probabilidad de adherencia al tratamiento; de igual manera al revisar las variables ocupación, afectación laboral, y gastos extras, encontramos que el desempleo parece mejorar la adherencia; es posible que al no estar vinculados laboralmente disponen de más tiempo para acudir a las instituciones y recibir el tratamiento. En cuanto a la variable administradora y afiliación en salud, tanto el grupo adherente como no adherente tienen acceso a los servicios de salud. A pesar de que el estado colombiano apoya el tratamiento a partir de políticas de atención al migrante y que el 100% de la población identificada se encontraba en un régimen de afiliación (contributivo, subsidiado o vinculado) se evidencia que éste no es un determinante que afecte la no adherencia al tratamiento y aun así el 68,4% no lo llevó a cabo o no lo terminó.

Por otra parte, durante el desarrollo de nuestra investigación hemos podido analizar que los estudios relacionados a la adherencia al tratamiento antituberculoso son tradicionalmente asociados a la atención en salud y pocos se han centrado en su relación con los DSS; es por ello que el nuestro se ha centrado en mostrar cómo estos determinantes impiden el éxito del tratamiento en la población migrante. Es importante la identificación de las condiciones socioeconómicas de la población migrante al momento de dar inicio al tratamiento ya que sus circunstancias en las cuales viven limitan la continuidad y el cumplimiento de este.

Un estudio realizado por Herrero y otros (16), muestra que en Argentina las condiciones de vida, el apoyo social, los costos de transporte y la distancia a los centros de salud influyen en la adherencia al tratamiento, especialmente en los grupos más vulnerables debido a factores asociados con la pobreza, malas condiciones de vida y dificultades económicas para acceder a los sistemas de salud. De igual manera resalta como en Nepal, India y Nicaragua (17,19), los gastos de viaje y la relación entre sexo y género fueron factores influyentes para abandonar el tratamiento. Asimismo, un estudio realizado en Rio de Janeiro, Brasil, mostró que las condiciones económicas (pobreza, extrema pobreza), la infraestructura (hogares con servicios públicos, calidad de la vivienda) y la vigilancia (seguimiento a

tratamiento y personas curadas) se relacionaron con la no adherencia al tratamiento, de igual manera en los escenarios de precariedad socioambiental pudieron identificar poblaciones con mayor riesgo de incumplimiento al tratamiento (20).

Para nuestro estudio no fue significativa la relación de sexo y no adherencia, posiblemente debido al tamaño de la muestra. En cuanto a estudios sobre la relación existente entre los DSS y la no adherencia, el estudio realizado por Maciel y colaboradores, demostró que existe una relación sobre los factores individuales asociados con la retirada del tratamiento y sobre los determinantes sociales del riesgo de TB, mientras que hay pocos estudios que examinen los determinantes sociales de la no adherencia al tratamiento (20). Hallazgo que se encontró de igual manera en el estudio realizado en Argentina (16).

Es por ello que al abordar la TB se debe mirar como un factor infeccioso y socioeconómico ya que se debe considerar que los costos relacionados al tratamiento en que incurren los hogares afectados, pueden ser causantes del abandono del tratamiento, al igual que el apoyo familiar. Por ello se hace necesario aumentar los estudios que examinen la relación existente entre los DSS y la no adherencia al tratamiento de TB.

Es importante recordar que la TB constituye una enfermedad de notificación obli-

gatoria para todas las instituciones de salud sea pública o privada, situación que conlleva a programar un seguimiento al paciente y a su familia. Es por ello, que ya identificada la población con TB por medio de la notificación obligatoria, podemos sugerir a las instituciones diseñar estrategias para dar cumplimiento al tratamiento, cuando este se interrumpe al encontrar el paciente barreras al momento de desplazarse a la institución y recibir la medicación.

La limitación más importante del estudio se encuentra en la imposibilidad de contar con una muestra de datos más grande, debido a que se tomó como fuente de información, aquella que dispone el prestador de servicios de salud. No obstante, sus resultados brindan evidencia preliminar para continuar profundizando con investigaciones posteriores que permitan comprender y explicar problemas de adherencia al tratamiento para la TB sea en otras instituciones de salud o en otros grupos poblacionales en situación de vulnerabilidad, entre ellos los migrantes.

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Informe mundial sobre la tuberculosis. [base de datos en internet]. Ginebra; 2018- [fecha de acceso 30 de mayo 2021]. Disponible en: https://www.who.int/tb/publications/global_report/es/
2. Organización Panamericana de la Salud. Tuberculosis. [base de datos en internet]. Washington; 2019- [fecha de acceso 30 de mayo 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/tuberculosis>
3. Ministerio de Salud y Protección Social. Plan estratégico “hacia el fin de la tuberculosis Colombia 2016 2025. [base de datos en internet]. Colombia: MINSALUD; 09 de 2019- [fecha de acceso 30 de mayo 2021]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/INEC/INTOR/Plan-estrategico-fin-tuberculosis-colombia-2016-2025.pdf>
4. R4V. Plataforma de Coordinación Interagencial para Refugiados y Migrantes de Venezuela. RMRP 2020 Para refugiados y migrantes de Venezuela. [base de datos en internet]. R4V: Plataforma de Coordinación Interagencial para Refugiados y Migrantes de Venezuela; 22 de marzo 2020- [fecha de acceso 30 de mayo 2021]. Disponible en: <https://www.r4v.info/>
5. Secretaría Distrital de Salud (2020). Diagnóstico del fenómeno migratorio con énfasis en salud en el distrito capital. Bogotá D. C. [base de datos en internet]. Colombia 2020- [fecha de acceso 20 de octubre 2021]. Disponible en: http://www.saludcapital.gov.co/Fen_migratorio/Diagnostico_FMM_agosto_2020.pdf
6. Departamento Nacional de Planeación (2018). Documento CONPES 3950 Estrategia para la atención de la migración desde Venezuela. [base de datos en internet]. Bogotá, Colombia: DNP; 2018- [fecha de consulta 20 octubre de 2021]. Disponible en: <https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Conpes/Econ%C3%B3micos/3950.pdf>
7. MINSALUD. Sistema de Salud Colombiano y Migrantes: Respuesta, Estado Actual y Retos. [base de datos en internet]. Colombia: MINSALUD; 09 de 2020- [fecha de acceso 30 de mayo 2021]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/GCFI/2sistema-salud-migrantes.pdf>
8. MINSALUD. Fenómeno migratorio población Venezolana en Colombia. [base de datos en internet]. Colombia: MINSALUD; 20- 09-2020- [acceso 30 de mayo 2021]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/GCFI/2019-09-20-msps-migrantes.pdf>

9. MINSALUD. Boletín epidemiológico semanal. [base de datos en internet]. Colombia; 2019- [fecha de acceso 30 de octubre de 2021]. Disponible en: https://www.ins.gov.co/busador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019_Boletin_evidemiologico_semana_52.pdf
10. Castelli, F. Sulis, G. Migration and infectious diseases. Clinical Microbiology and Infection – Journal – Elsevier. [revista en internet] 2017 Mayo [acceso 30 de mayo 2021]; (23) [p 283-289]. Disponible en: [https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(17\)30178-7/pdf](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(17)30178-7/pdf)
11. Sanz Barbero B, Blasco Hernández T, Galindo Carretero S. Abandono del tratamiento antituberculoso en la población inmigrante: : la movilidad y la falta de apoyo familiar. Gaceta Sanitaria. [revista en internet] 2009 diciembre [acceso 30 de mayo de 2021]; (23) [p 80-85]. Disponible en: <https://www.gacetasanitaria.org/es-abandono-del-tratamiento-antituberculoso-poblacion-articulo-S0213911109003100>
12. Maurera D, Bastidas G. Características clínicas y epidemiológicas de pacientes con tuberculosis en el estado Carabobo, Venezuela. Revista Medica del Uruguay – Scielo. Uruguay [revista en internet] 2019 [acceso 30 de mayo 2021]; 35(2) [105-112]. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/pdf/rmu/v35n2/1688-0390-rmu-35-02-32.pdf>
13. Suárez, I, Fünger, S. M, Kröger, S, Rademacher, J, Fätkenheuer, G, & Rybniker, J. The Diagnosis and Treatment of Tuberculosis. Deutsches Aerzteblatt International. [revista en internet] 2019 Julio 29 [acceso 30 octubre de 2021]; 116(43).Disponible en: <https://www.aerzteblatt.de/int/archive/article/210460>
14. Organización Mundial de la Salud. Adherencia terapéutica PAHO. [base de datos en internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2004- [fecha de acceso 30 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2012/WHO-Adherence-Long-Term-Therapies-Spa-2003.pdf>
15. Organización Mundial de la Salud. Comisión sobre Determinantes Sociales de la Salud. 62^a Asamblea Mundial de Salud Punto 12.5 del orden del día provisional. [base de datos en internet]. Ginebra: 16 de marzo de 2009- [fecha de acceso 30 de mayo de 2021]. Disponible en: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/A62/A62_9-sp.pdf
16. Herrero M, Ramos S, Arrossi S. Determinantes da não adesão ao tratamento da tuberculose na Argentina: barreiras relacionadas com o acesso ao tratamento. Revista Brasileira de Epidemiologia [revista en internet] 2015 abr-jun. [acceso 30 de octubre 2021] 18 (2): [287-298]. Disponible en: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:eu72BMAIEosJ:https://www.scielo.br/j/rbepid/a/HXM3VwLbFXz3qNFPYrvBBw/abstract/%3Flang%3Den+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=co>
17. Mishra P, Hansen EH, Sabroe S, Kafle KK. Socioeconomic status and adherence to tuberculosis treatment: a case-control study in a district of Nepal. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease [revista en internet] 2005 octubre [acceso 30 de julio 2021] 9(10): [1134-9]. Disponible en: <https://www.ingentaconnect.com/content/iuatld/ijtld/2005/00000009/00000010/art00011>
18. Singh V, Jaiswal A, Porter JDH, Ogden JA, Sarin R, Sharma PP, et al. TB control, poverty, and vulnerability in Delhi, India. Trop Med Int Health [revista en internet] 2002 agosto [acceso 20 de julio de 2021] 7(8): [693-700]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12167096/>
19. Soza Pineda NI, Pereira SM, Barreto ML. Abandono del tratamiento de la tuberculosis en Nicaragua: resultados de un estudio comparativo. Revista Panamericana de Salud Pública [revista en internet] 2005 [acceso 20 de julio de 2021] 17(4): [271-8]. Disponible en: <https://www.scielosp.org/article/rppsp/2005.v17n4/271-278/>
20. Maciel, E. Amancio, J. Castro, D. & Braga, J. Social determinants of pulmonary tuberculosis treatment non-adherence in Rio de Janeiro, Brazil. Plos one. [revista en internet]. 2018 [acceso 30 de octubre 2021]; 13 (1). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/322278630_Social_determinants_of_pulmonary_tuberculosis_treatment_non-adherence_in_Rio_de_Janeiro_Brazil

Temporal analysis of covid-19 in Colombia: associated indicators and modeling

Análisis temporal del covid-19 en Colombia: indicadores asociados y modelización

Hugo Alexander Rondón Quintana¹, Carlos Alfonso Zafra Mejía²

Abstract

Introduction. This study shows statistical information regarding COVID-19 in Colombia up to this date (March 1-2022). Specifically, the daily, monthly and cumulative evolution of infections and deaths, correlated with the distribution of the population according to age and gender. **Objective.** Show statistical information about COVID-19 that allows help to plan and design, in future Pandemics, public health policy strategies in Colombia. **Methods.** Daily information since the official declaration of Pandemic in Colombia (March 16 – 2020) was obtained by the National Health Institute (INS) and was organized in a database in order to conduct respective analysis. This information was compared to similar studies obtained based on the bibliographical review. **Results and Conclusions.** Results and conclusions are similar to those found in the reference literature: most part of those dead by COVID-19 are of senior age and male gender. Regarding Case Fatality Rate (CFR), it notoriously increases with age. The most vulnerable population displays an average age of ≥ 52.8 years. The less vulnerable population are young persons under 30 years of age, but specifically, those within the age range of 10 and 20 years. Gompertz and Logistic models can mathematically simulate the evolution of deaths and the evolution of CFR according to age.

Keywords: COVID-19, case fatality rate (CFR), Colombia, statistic, modeling, pandemic.

1. Ph.D., Facultad del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá D.C., Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2946-9411>

2. Facultad del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá D.C., Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4061-4897>

E-mail: harondonq@udistrital.edu.co
Phone number: +57 1 3108687715
Mailing address: Avenida Circunvalar sede Vivero, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá D.C., Colombia.

► <https://doi.org/10.22490/24629448.6187>

Recibido: 19/01/2022
Aceptado: 24/05/2022

Resumen

Introducción. Este estudio muestra información estadística sobre el COVID-19 en Colombia a la fecha (1 de marzo de 2022). Específicamente, la evolución diaria, mensual y acumulada de contagios y defunciones, correlacionada con la distribución de la población según edad y sexo. **Objetivo.** Mostrar información estadística sobre COVID-19 que permita ayudar a planificar y diseñar, en futuras Pandemias, estrategias de política de salud pública en Colombia. **Metodología.** La información diaria desde la declaratoria oficial de Pandemia en Colombia (16 de marzo de 2020) fue obtenida del Instituto Nacional de Salud (INS) y fue organizada en una base de datos para realizar los análisis respectivos. Esta información se comparó con estudios similares obtenidos a partir de revisión bibliográfica. **Resultados y conclusiones.** Los resultados y conclusiones son similares a los encontrados en la literatura de referencia: la mayor parte de los fallecidos por COVID-19 son de edad avanzada y sexo masculino. En cuanto a la tasa de letalidad (CFR), ésta aumenta notoriamente con la edad. La población más vulnerable presenta una edad promedio ≥ 52.8 años. La población menos vulnerable son los jóvenes menores de 30 años, pero específicamente, los que se encuentran en el rango de edad de 10 y 20 años. Los modelos Gompertz y Logistic pueden simular matemáticamente la evolución de las muertes y la evolución de la CFR según la edad.

Palabras clave: COVID-19, tasa de letalidad (TL), Colombia, estadística, modelización, pandemia.

Introduction

COVID-19 is a disease produced by the SARS-CoV-2 coronavirus. Up to this date (March 1 – 2022) throughout the world, 437,792,328 persons have been diagnosed with the disease, 5,978,217 (1.37%) have died, 369,500,307 (84.4%) have recovered and 62,313,804 (14.2%) are under study or in recovery. In Colombia, 6,064,583 persons have been diagnosed, 138,767 (2.29%) have died, 5,890,563 (97.1%) have recov-

ered and 35,253 (0.58%) are under study or in recovery. If this disease is compared to other diseases such as the Middle East Respiratory Syndrome (MERS) and Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) (which are also produced by other coronaviruses), is less lethal. Furthermore, most of COVID-19 cases are light, with a great number of persons that can be asymptomatic, others easily recover and most do not need hospital care (1-3). However, SARS-CoV-2 is spreading faster, generating grea-

ter numbers of infections and possible risks of death (reproduction number $R_0 = 3.28, 3.0$ and 1.0 for COVID-19, SARS and MERS, respectively) (4-5). Estimated Case Fatality Rate – CFR for COVID-19 varies between 2.2 and 3.0% , SARS between 9.6 and 15.0% and MERS between 34.4 and 35.8% (2, 6-8).

A more precise indicator than CFR is infection fatality ration (IFR), given that CFR could overestimate lethality of COVID-19 (9). Its estimation is difficult given that many COVID-19 cases are asymptomatic or develop light symptoms and these are not taken into consideration. Additionally, the standard test for COVID-19 involves polymerase chain reaction testing (PCR) of nasopharyngeal swabs from patients suspected of having contracted the virus, which can produce some false negatives (10-13). Some IFR values obtained by several researchers are 0.68% (13), 1.38% (15), 0.5% (16), 0.8% (17), 0.3% (18), 0.9% (19), 0.64% (20), 1.03% (21), 1.096% (22). These values are dispersed (varying from 0.3% up to 1.38%). According to (14), IFR $< 1\%$ makes closing schools and social distancing not profitable. IFR and CFR must be analyzed according to age ranges. According to (9) IFR = 0.001% for children under age 15 and 1.5% for persons age ≥ 70 years. These researchers also report an average CFR/IFR ratio of = 23. However, this ratio also changed with age: CFR/IFR = 100 (children age < 15 years), 60 (15-19

years), 25 (20-29 years) and between 17-21 (persons ≥ 30 years). Based on four studies analyzed and extracted from (22), the average estimated IFR changed according to age range ($8, 0.7, 0.08$ and 0.008% for persons ages 80, 60, 40 and 20 years, respectively).

Various studies have been carried out and are daily published throughout the world in relation to COVID-19. Despite this, it is still difficult to obtain reliable information on the matter, given that social networks and communications media on some occasions show an erroneous infodemic, which misinforms. This exposure to infodemic managed to affect mental health of people and impacting on negative responses to the disease (23-27). In general, a fully validated aspect regarding the disease ever since the beginning of the Pandemics is that the main risk factors are associated with people of senior age, male gender and with comorbidities (e.g., arterial hypertension, diabetes mellitus, kidney, cardiovascular, cerebrovascular and chronic obstructive pulmonary diseases, cancer, asthma, acquired immune deficiency syndrome, among others) (21, 26, 28-39). Likewise, malnutrition, (one of the main causes of immune deficiency throughout the world), obesity and tobacco use (which have a strong relation to respiratory diseases), are directly associated to deaths by COVID-19 (26, 36, 40-46). These conclusions are not new. According to (47-72) several epidemiological studies have demonstrated that people with

ages above 65 and with prior comorbidities have a greater risk of developing severe complications and dying due to other diseases catalogued as less lethal, such as influenza, common flu, as well as malnutrition, abuse, abandon, mental health, etc. Combining aspects associated to age and comorbidities, some researchers conclude that biological age, more so than chronological age of affected patients could be the critical factor in order to systematically assess COVID-19 infections and avoiding excess mortality (53). Also, several studies agree that the gravity of this disease is directly associated with low temperature and environmental contamination (54).

There are other aspects regarding the disease that are ambiguous. Some studies mention that the disease poses greater risks in places with more poverty and inequality (35, 38, 55-57). However, others conclude the opposite. Specially, a phenomenon known as the “African Paradox” (58) shows that in African countries death cases were less in comparison to European countries and United States of America (59-62). Some hypotheses suggest that in other countries, a younger population, a warmer and more humid climate, prior exposure to other coronaviruses (presence of antibodies), and the possible quicker accomplishment of herd immunity and prior experience in management of other infectious diseases could have reduced COVID-19 death risks (61, 63-66).

In countries such as Colombia, COVID-19 could produce a greater impact than in others, possibly because: i) its health infrastructure, lack of intensive care units (ICUs) (36-37); ii) high rate of informal employment and social inequality (67); iii) hospital capacity for facing a new infectious disease (28, 38); iv) delay in notifying symptoms in affected patients (average of 9.1 days) (26, 68), along with a delay in the treatment of symptoms; v) prevalence of comorbidities along with chronic malnutrition (36). Furthermore, some studies in Colombia (69) conclude that hospital occupation is normally high (especially in flu seasons) putting the population at risk before Pandemics and events with multiple victims (natural disasters, earthquakes etc.). Additionally, in Colombia, risk factors for a senior population are two or three times greater in comparison to countries of higher incomes, and increase when people live in geographically remote areas and areas that are economically and socially depressed (70). On the contrary, an aspect that could have reduced the evolution of deaths in Colombia is its younger population in comparison to European countries (39).

The foregoing study had the main objective of conducting a statistical analysis on the evolution of COVID-19 in Colombia. This information was associated to infections, deaths, age and gender of people who were infected with the disease. This information can help to plan and design, in future Pan-

demics, public health policy strategies. Similar studies have been conducted on the matter throughout the world, however, no document has consulted, organized summarized and analyzed information such as the one presented in this paper. Additionally, updated information is presented in comparison to that of other documents. The results presented can be a source of consultation for academics, researchers and research groups on the matter, as well as for institutions that dedicate to public health policy planning.

Methods

The type of research design in this study was descriptive observational. Initially, a bibliographical review was carried out on the subject, mainly in the ScienDirect scientific database. In this database, today (March 1 – 2022), if you type the word COVID-19, 113,442 results or documents are displayed in order to be consulted. These increase on a daily basis due to the high number of studies that have been carried out on the matter. In order for the analysis, the ones chosen were those that had a greater affinity with the object of study of this paper: statistical information on the evolution of infections and deaths by COVID-19 in the world in order to compare these with the case of Colombia. Additionally, articles published in high impact journals were mainly chosen (Q1 or Q2 according to SCImago Journal Rank and Scopus).

The data that was statistically analyzed for this study mainly comes from the Ministry of Health and Social Protection of Colombia (MinSalud), which daily publishes official information concerning COVID-19 through the National Health Institute (INS). Information obtained from INS was related to new daily confirmed cases (DNC), daily confirmed deaths (DD), age and gender of infected and deceased, comorbidities of deceased, lastly, city and department of the deceased. This information was organized in a database ever since the declaration of Pandemics (March 16 – 2020) to this date (March 1 – 2022). Accumulating DNC and DD values, there was an estimation of the total coronavirus cases (CC) and the total number of deaths (TND), respectively, as well as $CFR = TND/CC$ in percentage. The epidemiological curve was mathematically modelled the evolution of TND in Colombia throughout time. For the case of deceased persons, the sample analyzed was of 138,612 (99,89% of total deaths registered up to the date of March 1 – 2022). The information registered in the database was organized and presented in Tables and Figures in order to facilitate its analysis.

Results

The evolution of confirmed daily new cases (DNC) of coronavirus SARS-CoV-2 and the daily number of deceased (DD) across time are shown in Figures 1a and 1b, respectively. If cumulative DNC and DD values

are shown, we would obtain the number of confirmed coronavirus cases (CC) and the total number of deceased (TND), respectively (see Figures 1c and 1d). An exponential growth can be observed in CC and TND until reaching each peak, followed by a

brief stabilization phase each time the epidemiological peak dropped. Up to this date (March 1 – 2022), TND is of 138,767 persons of which 60.8% are male and 39.2% female gender, respectively.

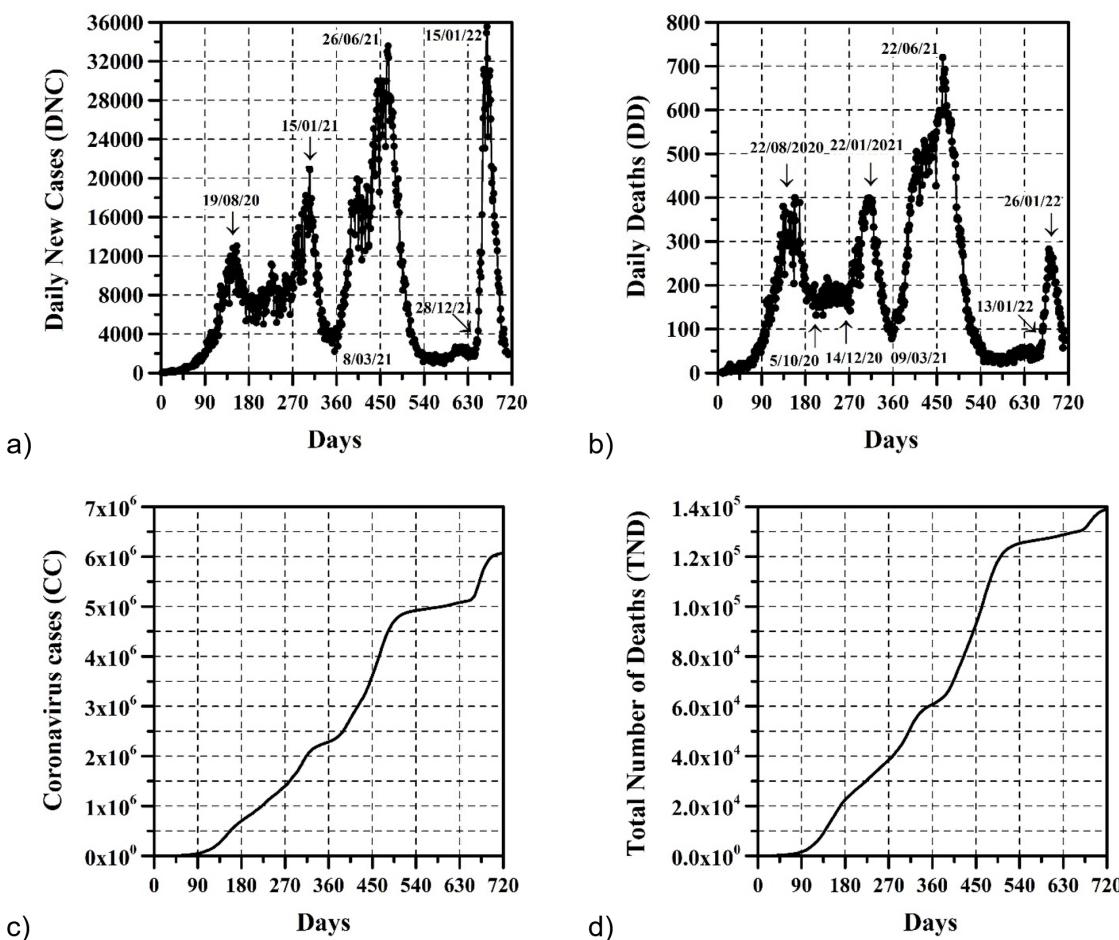


Figure 1: a) DNC, b) DD, c) CC, d) TND evolution in the time.
Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

Figures 1c and 1d can be mathematically represented using Gompertz [1] and Logistic [2] equations. These equations have been used throughout several studies in the area of biology and medicine. Furthermore, they have even been used to attempt to predict the COVID-19 in some countries

(71-76). However, most part of these studies had initial information regarding the evolution of COVID-19 (scarce information), and because of that reason, the constants obtained do not represent the current evolution of the disease. For the case of Figure 1d, parameter a defines the maximum

quasi-asymptotic value of TND, whereas b moves the curve and defines its inflection. D is the number of days from the first case of death. In Equation [1] (Gompertz model), based on the projected trend and obtaining $r^2=0.987$, the values $a=1.617 \times 10^5$, $b=1.81$ and $c=5.39 \times 10^{-3}$ were expected. In other words, values close to 162 thousand COVID-19 deaths could be expected. For the case of Equation [2] (Logistic model), for $r^2=0.990$ the values $a=1.434 \times 10^5$, $b=45.9$ and $c=1.012 \times 10^{-2}$

would be expected. In other words, values close to 145 thousand COVID-19 deaths were expected. In both equations with these parameters, correlations start to become strong from the fifth month of simulation onward. Simulations using both equations are shown on Figure 2.

$$TND = ae^{-e^{b-cD}} \quad [1]$$

$$TND = \frac{a}{1+b \cdot e^{-cD}} \quad [2]$$

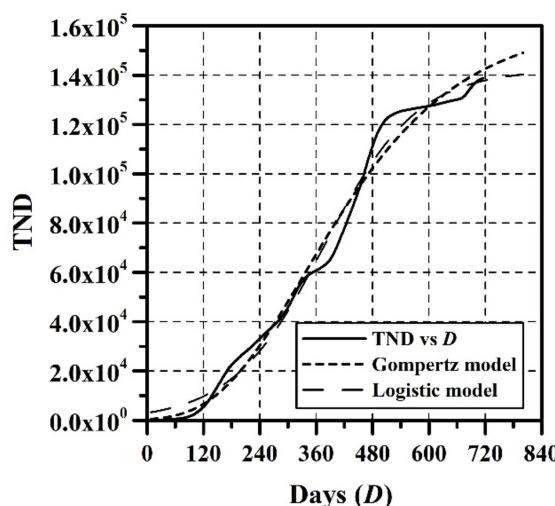


Figure 2: Simulation of TND evolution using Gompertz and Logistical models.

Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

The months with greatest cases of infections and deaths in each peak of the disease were August 2020, January 2021, June 2021 and January 2022 (Figure 3). In these four months 38.5% of infections were produced and 30.6% of deaths occurred. On average, the number of daily infections (DAAC) in these months was $10,311.6 \pm 1,598$, $14,584.2 \pm 3,246$, $27,817.5 \pm 3,358$ and $23,542.6 \pm 7359.7$ respectively (Figure 3a), while the monthly accu-

mulated number of infections (CC-m) was 319,660, 452,109, 834,526 and 729,821 respectively (Figure 3b). On average, the total number of daily deaths (DATND) in these months was 308.3 ± 42 , 347.4 ± 54 , 592.3 ± 63 and 140.6 ± 88 , respectively (Figure 3c), while the number of monthly accumulated number of (TND-m) was 9,558, 10,770, 17,770 and 4358, respectively (Figure 3d).

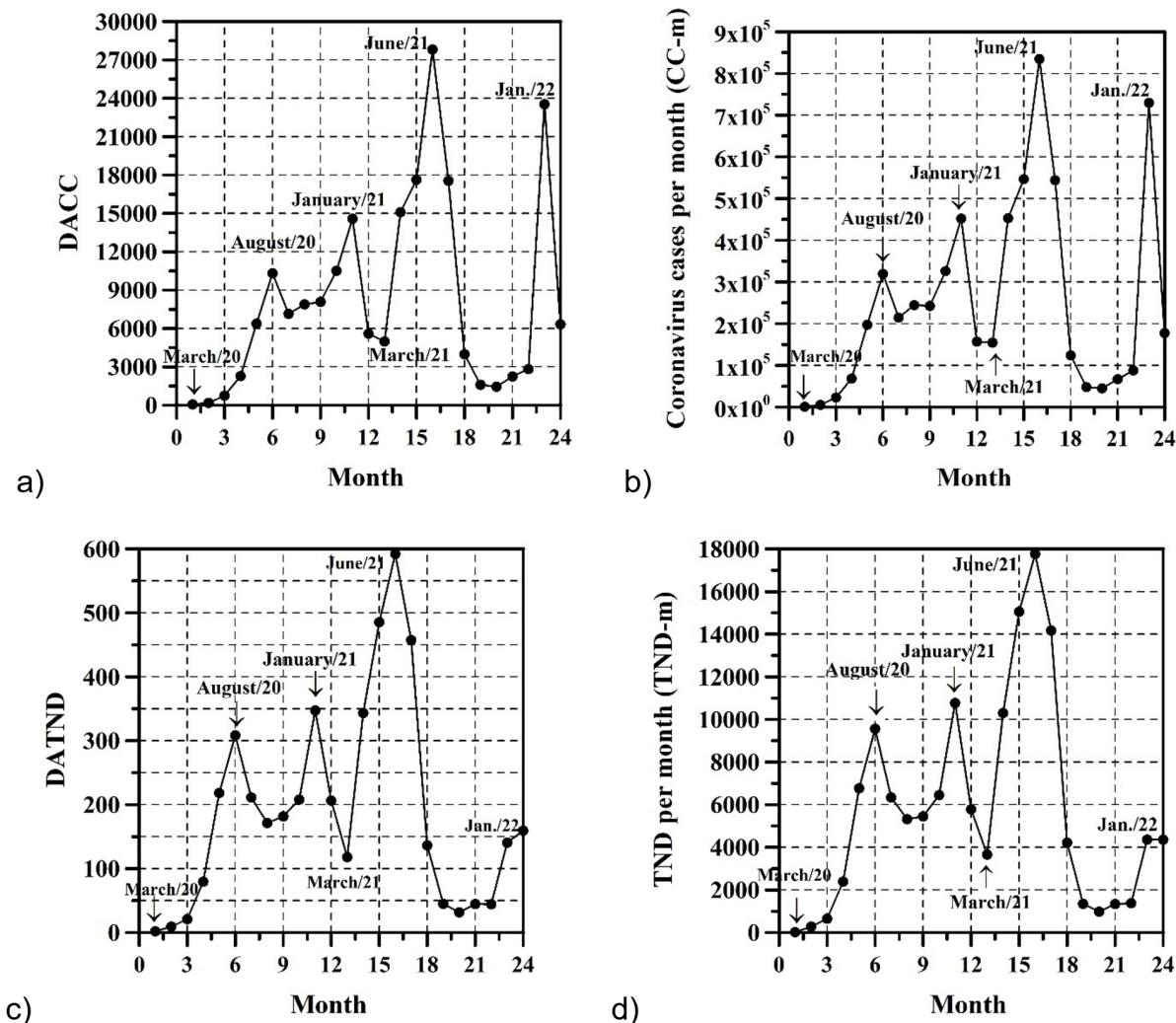


Figure 3: a) DAAC, b) CC-m, c) DATND, d) TND-m evolution per month.

Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

If we divide DNC by DD, we obtain daily CFR (see Figure 4a). The evolution of daily CFR is not clear and is scattered (values constantly change from 1.5% up to 5%). On the contrary, cumulative CFR (percentage relation between CC and TND) has a clearer trend (Figure 4b), reaching a quasi-constant value of approximately 2.55% from January 2021 until December 2021.

Then, it declines until reaching approximate values of 2.29% to date. This behavior is also observed when graphing TND against CC (Figure 5, with an average slope of approximately 2.5% or average CFR). This average CFR is distributed across ages in Table 1 and increases with age. This information was obtained from march 2020 to October 2021 and agrees with several stu-

dies consulted on the matter which conclude that the most important risk factor for COVID-19 is increase of age (3, 39, 77-78). The evolution of CFR with age (A in years) can be mathematically represented by using

Logistic and Gompertz Equations [3] and [4]; $r^2=0.9995$). $a=40.33$, $b=3411.8$ and $c=0.1$ for Equation [3] and $a=56.3$, $b=3.58$ and $c=0.045$ for Equation [4].

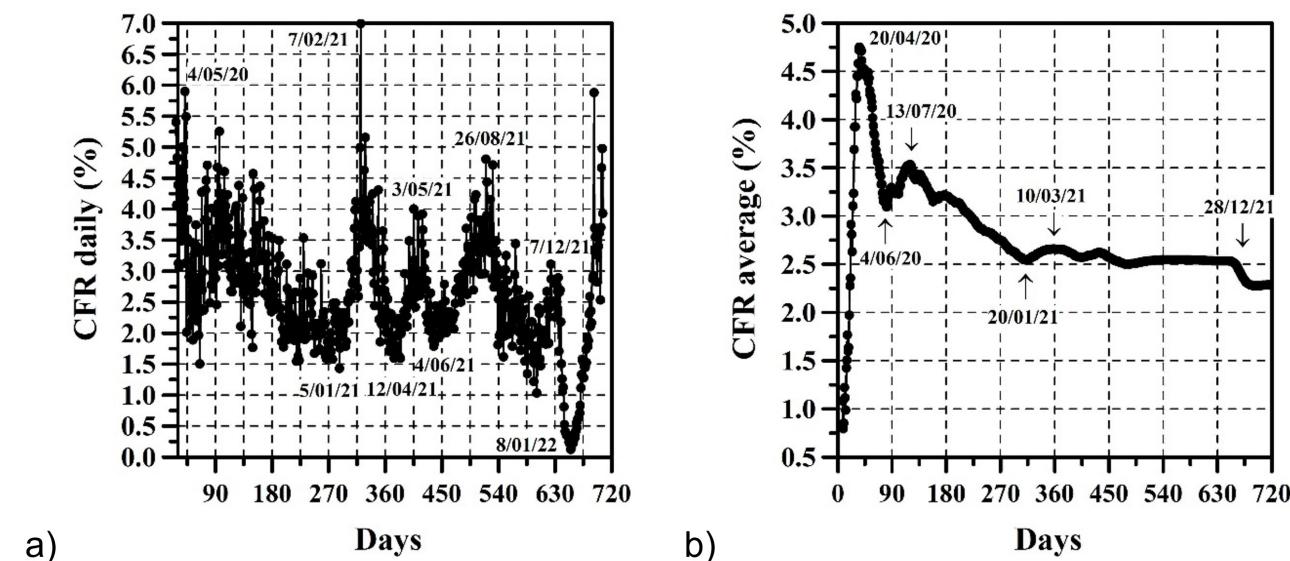


Figure 4: a) CFR daily evolution; b) CFR accumulated in time.

Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

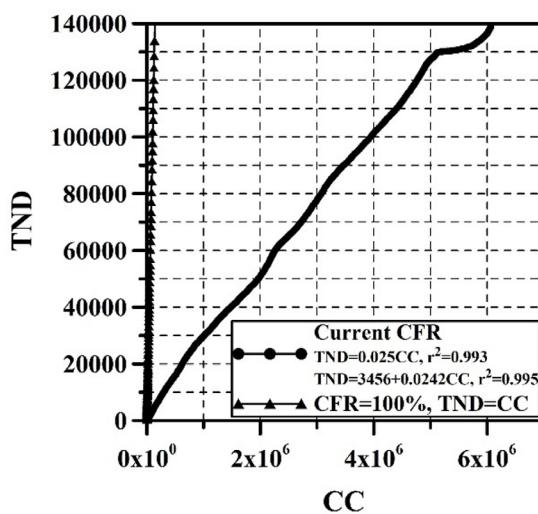


Figure 5: TND vs CC.

Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

Table 1. Distribution of CC and CFR across age range.

Age range (years)	CC	CFR (%)	Deviation (%)
≥90	20360	34.12	2.18
80-89	92760	26.11	2.12
70-79	202132	16.57	1.49
60-69	413735	7.99	1.35
50-59	688396	2.81	0.40
40-49	847674	1.16	0.29
30-39	1121350	0.36	0.062
20-29	1063334	0.16	0.060
10-19	380415	0.05	0.020
0-9	173820	0.17	0.196

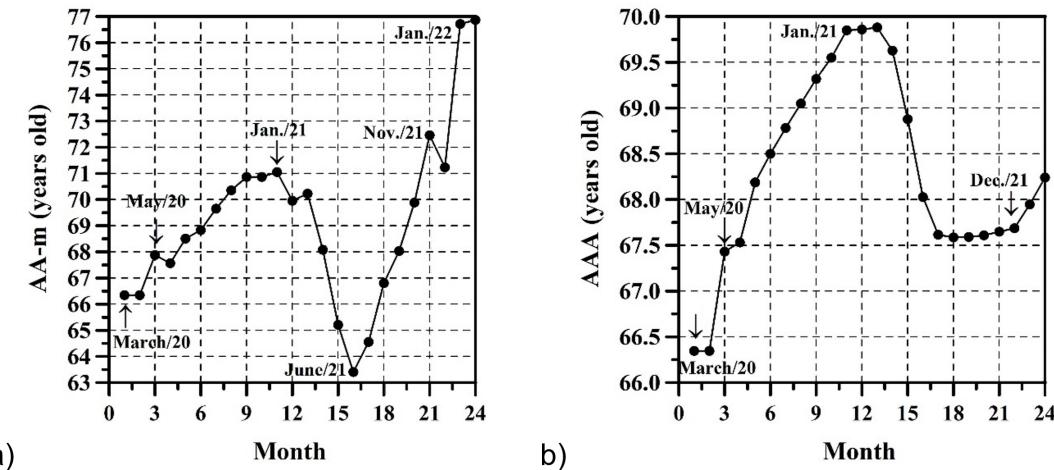
Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

$$\text{CFR} = \frac{a}{1+b \cdot e^{-cA}} \quad [3]$$

$$\text{CFR} = ae^{-b-cA} \quad [4]$$

The average age of COVID-19 deceased in Colombia each month (AA-m) and cumulative (AAA) age are presented in Figures 6a

and 6b, respectively. The monthly evolution of MVP (most vulnerable population; difference between average age and standard deviation) for each month (MVP-m) as well as cumulative (MVPA) is also depicted in Figures 7a and 7b, respectively.

**Figure 6.** Evolution of a) AA-m, b) AAA.

Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

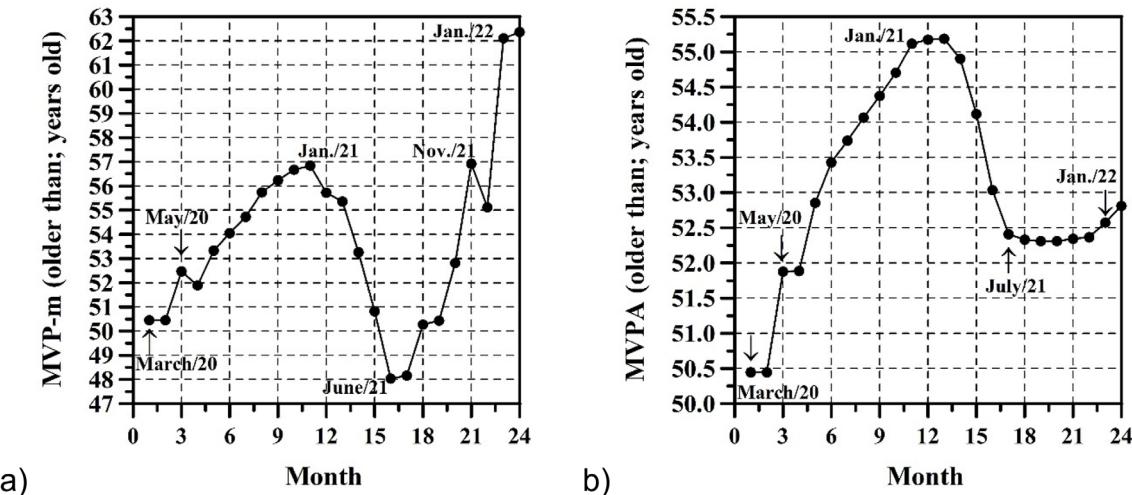


Figure 7. Evolution of a) MVP-m, b) MVPA.

Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

The mode in ages of deceased each month (Mode-m) and cumulative mode (Mode-A) is shown on Figures 8a and 8b, respectively. To date, the mode is 70 years.

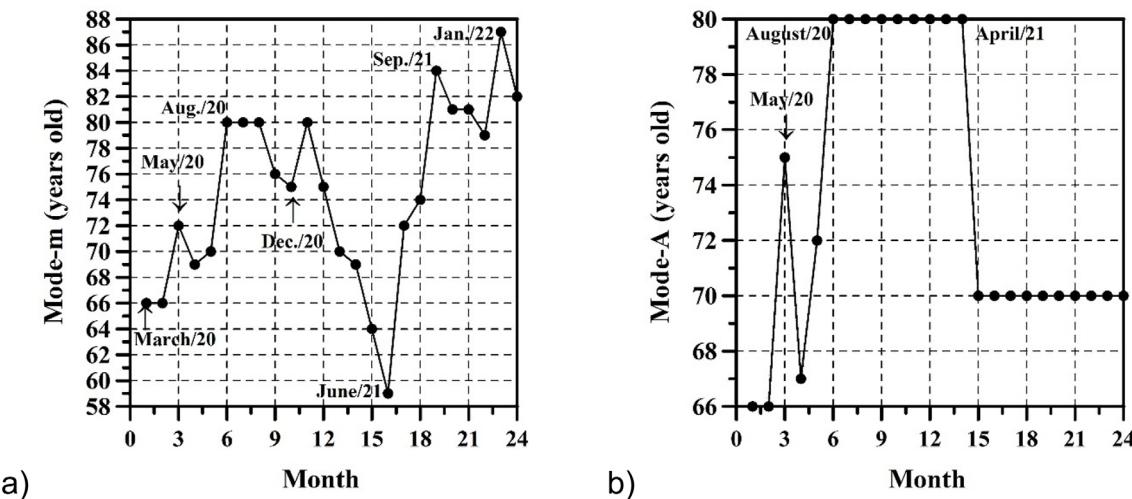
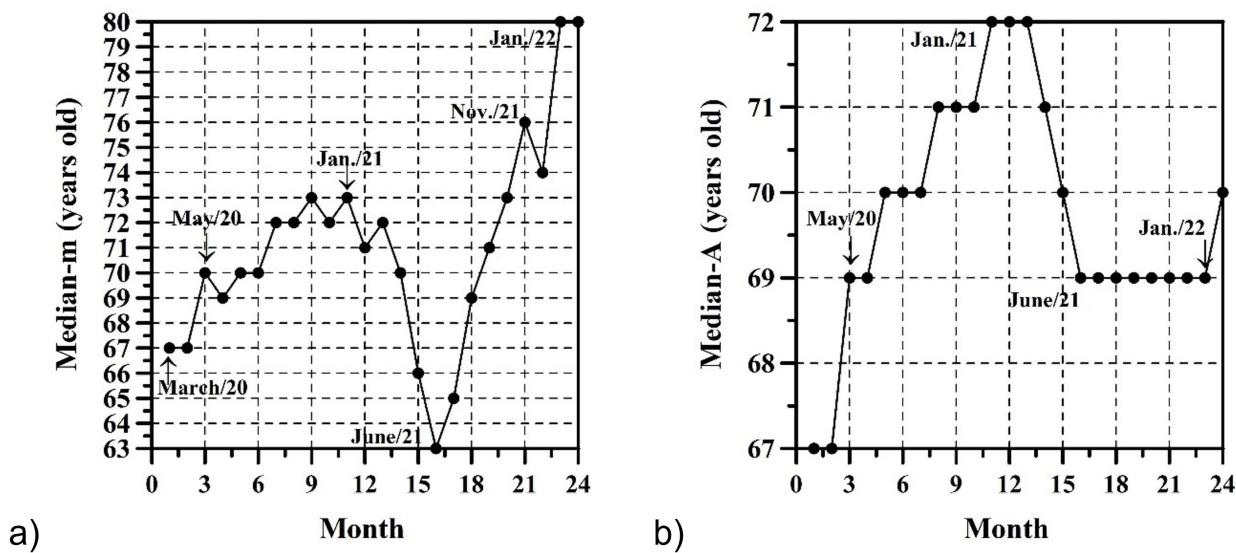


Figure 8. Evolution of a) Mode-m, b) Mode-A.

Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

The median for ages of deceased each month (Median-m) and cumulative median

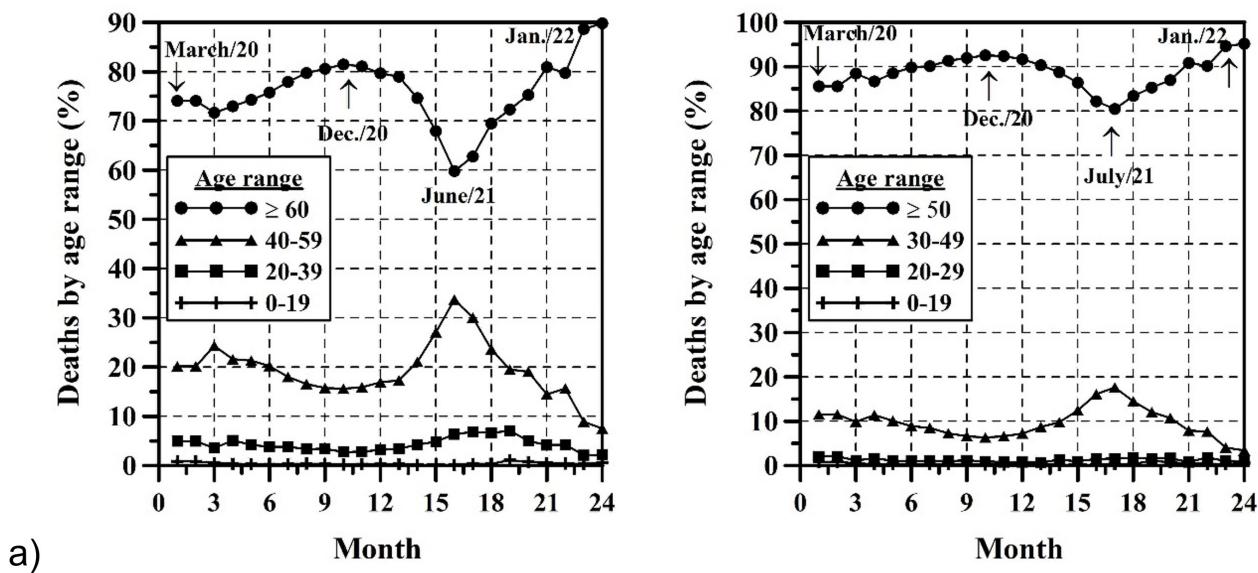
(Median-A) is shown in Figures 9a and 9b, respectively. To date, the median is 70 years.

**Figure 9.** Evolution of a) Median-m, b) Median-A.

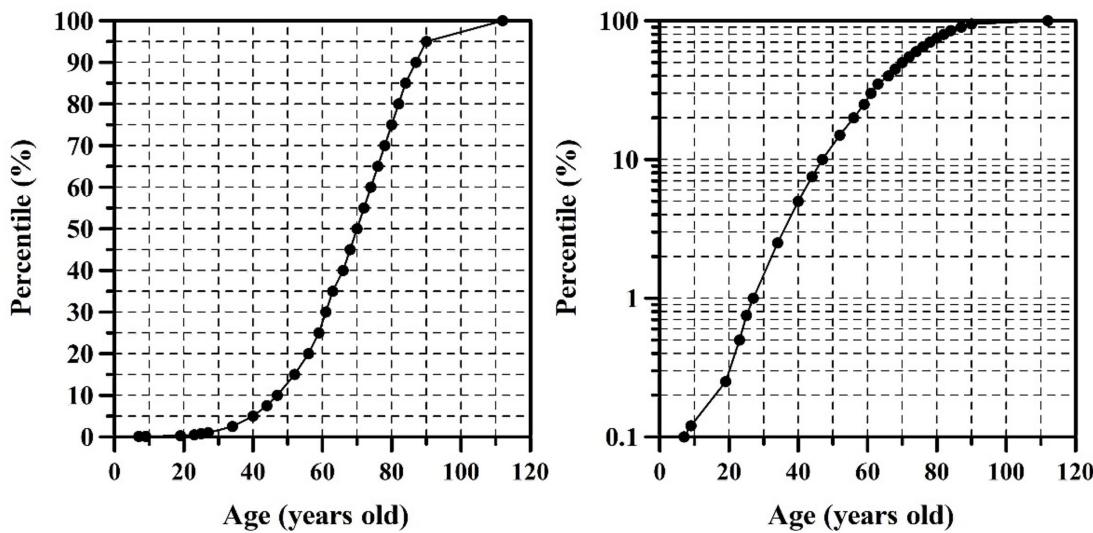
Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

The percentage of deceased according to age range is depicted in Figure 10, and the respective percentiles are shown in Figure 11.

These data are coherent to the results of AAA, Mode-A and Median-A.

**Figure 10.** Percentage of deaths according to age range.

Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

**Figure 11.** Percentile of deaths according to ages.

Source: Hugo Alexander Rondón Quintana, Carlos Alfonso Zafra Mejía.

Discussion

Four peaks of the disease can be observed in which it had the greatest values of DNC and DD. These peaks coincide with the traditional flu peaks in Colombia (September to December and April to June, (79)).

It is observable that most death persons are of senior age (≥ 60 years). Up to this date (March 1 – 2022), the average age of deceased is of 68.2 ± 15.4 years and the MVP has an average age of ≥ 52.8 years.

An increase in age average of deceased can be observed from the beginning of the Pandemics (March – 2020) until January 2021. Then it drops until June 2021, possibly because of the following reasons: i) the youngest population was the one with most infections (see Table 1) given that it is the most active. On average, $74.5 \pm 0.69\%$ of infections occurred in persons with ages

between 20 and 60 years and $10.3 \pm 0.79\%$ under the age of 20 (in total, this population added up to almost 85% of infections), whereas only $15.3 \pm 0.71\%$ had an age above 60 years; ii) flexibilization in mitigation measures, especially for younger persons; iii) between the months of April and August 2021, important protests against the National Government emerged, in which young persons were more exposed to infections; iv) in Colombia, young population predominates (population with ages 60 years is 13.1% approximately); v) vaccination began in Colombia on March 2021, beginning with the oldest population. However, from June 2021, the age of deceased once again increased mainly because of: i) there is still a great part of the population above 60 years of age that has not been vaccinated in the country; ii) vaccines are less effective in older persons with comorbidities in comparison to younger population; iii) vaccina-

tion in persons below age 60 began from May 2021; iv) a great part of young people in Colombia have been infected and could have possibly reached a high level of herd immunity.

It is observable that the monthly mode of death persons has always been superior or equal to 64 years, except in the month of June 2021 (59 years). However, based on accumulated data, the mode has always been above 65 years and furthermore, it can be observed that between the months of August 2020 and April 2021, maintained at 80 years.

It is observable that the monthly median of death persons has always been superior or equal to 65 years (with a maximum peak of 80 years), except in the month of June 2021 (63 years). However, based on accumulated data, the median has always been above 66 years and furthermore, it is observable that the greatest values (80 years) were reached in the last two months (January and February 2022). The drop in mode and median from January 2021 until June 2021 could be explained by the same reasons previously mentioned for the case of AA-m.

The greater part of deceased were persons with ages ≥ 60 years (Figure 10a). Between March 2020 and April 2021, more than 72% of deceased had that age, showing the highest peaks (79.5% to 81.5%) in the months of October 2020 and March 2021.

Between May 2021 and June 2021, decay can be observed as a product of the drop reported in the case of AAA, Mode-A and Median-A. However, even this age range continued being the one with greater prevalence of deaths (60%), and the trend within the last months has been once again increasing this percentage (89% in last two months). The percentile 28.5% is equivalent to 60 years, in other words, 28.5% of deceased had an age below 60 years. Additionally, if age range is analyzed from 50 years onward (Figure 10b), it can be seen that these persons contributed with between 80% and 95% of deceased, which is coherent with MVPA. On average, this age range (≥ 50 years) contributed with $88.9 \pm 3.8\%$ of deceased. The percentiles 12.5% and 5% are equivalent for 50 and 40 years, respectively. In other words, 12.5% and 5% of deceased had an age below 50 and 40 years, respectively. Between March 2020 and April 2021, deaths varied between 6.3% and 11% approximately for the age range of 30 to 50 years. From May 2021 to July 2021 this percentage increased up to 18% approximately, however, within the latest months, a drop is reported once again. On average, this age range (30 to 50 years) contributed with $9.5 \pm 3.5\%$ of deaths. Regarding persons with ages under 30 years, the virus was less lethal. Between 20 and 30 years of age, deaths varied between 0.63% and 1.73% (average of $1.2 \pm 0.4\%$). For the case of persons under 20 years of age, deaths varied between 0.17% and 0.5% (average of $0.39 \pm$

0.23%), with the less vulnerable population being between the ages of 10 and 20 years ($0.12\pm0.06\%$). For the case of 10, 20 and 30 years of age, respective percentiles are 0.13%, 0.28% and 1.5%.

Conclusions

Based on the results obtained the following is concluded:

Up to this date (March 1 – 2022), the epidemiological evolution in Colombia has gone through four peaks, which match the traditional flu seasons. The months of greatest cases of infections and deaths in each peak of the disease were January 20021, June 2021 and January 2022, representing 38.5% of infections and 30.6% of deaths. In the last peak, the age of the dead increased markedly.

The daily evolution of TND and the growth of CFR with the increase of age can be mathematically simulated using Gompertz and Logistical models. The current average CFR is around 2.5%, however, since it is distributed in ages, it notoriously increases with its increase.

Most COVID-19 deaths occur in people of senior age (the average age of deceased = 68.2 ± 15.4 years; mode = 70 years; median = 70 years) and of male gender (60.8%). The most vulnerable population is the one that has an average age of ≥ 52.8 years, contribu-

ting to 85% of deaths (percentile 15). The least vulnerable population were young persons between the ages of 10 and 20 years, but in general terms, young population under the age of 30 has presented low mortality rates. For 10, 20, 20 and 40 years, the respective percentiles were 0.11%, 0.26%, 1.5% and 5%.

Based on the bibliographical reviewed, additional conclusions are the following: i) most persons that are infected with COVID-19 are asymptomatic, or do not experience serious symptoms; ii) most people diagnosed recover; iii) lethality of COVID-19 in terms of CFR and IFR increase with age, number and type of comorbidities in people and are greater among the male gender; iv) lethality in the disease is strongly associated to malnutrition, obesity and tobacco use.

Future studies must approach matters related to socio-economic, public health, cultural, political and environmental impacts that the COVID-19 has generated and will generate in Colombia. Additionally, it is important to compare COVID-19 lethality with regards to other diseases that are known as less lethal (e.g. influenza, flu etc.) All of the above, geared towards preparing and helping the country during a future Pandemics crisis.

Referencias

- ## Referencias

 1. Guan W, Ni Z, Yu H, Liang W, Ou C., He J, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382:1708-1720. 10.1056/NEJMoa2002032
 2. Xie M, Chen Q. Insight into 2019 novel coronavirus — An updated interim review and lessons from SARS-CoV and MERS-CoV. *Int J Infect Dis.* 2020;94:119–124. 10.1016/j.ijid.2020.03.071 1201-9712
 3. Chen Y, Klein SL, Garibaldi BT, Li H, Wu C, Osevala N, et al. Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. *Ageing Res Rev.* 2021;65:101205. 10.1016/j.arr.2020.101205
 4. Bauch CT, Oraby T. Assessing the pandemic potential of MERS-CoV. *Lancet.* 2013;382:662–664. 10.1016/S0140-6736(13)615044.
 5. Liu Y, Gayl AA, Wilder-Smith A, Rocklov J. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *J. Travel Med.* 2020;27(2):1–4. 10.1093/jtm/taaa021
 6. Berber E, Sumbria D, Çanakoğlu N. Meta-analysis and comprehensive study of coronavirus outbreaks: SARS, MERS and COVID-19. *J Infect Public Health.* 2021;14(8):1051-1064. 10.1016/j.jiph.2021.06.007
 7. WHO, Department of Communicable Disease Surveillance and Response World Health Organization. Consensus document on the epidemiology of severe acute respiratory syndrome (SARS) p. 10. 2003. Retrieved from <https://www.who.int/csr/sars/en/WHOconsensus.pdf>. [Accessed 20 September 2021]
 8. World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). Retrieved from [https://applications.emro.who.int/docs/EMRPUB-CSR-241-2019-EN.pdf?ua=1%26ua=1%26ua=1%26ua=1%26ua=1%26ua=1%26ua=1%26ua=1](https://applications.emro.who.int/docs/EMRPUB-CSR-241-2019-EN.pdf?ua=1%26ua=1%26ua=1%26ua=1%26ua=1%26ua=1%26ua=1) [Accessed 20 September 2021]
 9. Guzman NA, De la Hoz-Restrepo F, Serrano-Coll H, Gastelbondo B, Mattar S. Using serological studies to assess COVID-19 infection fatality rate in developing countries: A case study from one Colombian department. *Int J Infect Dis.* 2021;110:4-5. 10.1016/j.ijid.2021.06.018
 10. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in false-negative rate of reverse transcriptase polymerase chain reaction-based SARS-CoV-2 tests by time since exposure. *Ann Intern Med.* 2020;173(4):262-267. 10.7326/M20-1495
 11. Fernández-Barat L, López-Aladid R, Torres A. The value of serology testing to manage SARS-CoV-2 infections. *Eur Respir J.* 2020;56(2):2002411. 10.1183/13993003.02411-2020
 12. Xiao AT, Tong YX, Zhang, S. False negative of RT-PCR and prolonged nucleic acid conversion in COVID-19: Rather than recurrence. *J Med Virol.* 2020;92(10):1755-1756. 10.1002/jmv.25855. Epub 2020 Jul 11
 13. Meyerowitz-Katz G, Merone L. A systematic review and meta-analysis of published research data on COVID-19 infection-fatality rates. *Int J Infect Dis.* 2020;101:138–148.
 14. Perlroth D, Glass RJ, Davey VJ, Cannon D, Garber AM, Owens DK. Health outcomes and costs of community mitigation strategies for an influenza pandemic in the United States. *Clin Infect Dis.* 2010;50(2):165-74. 10.1086/649867.
 15. Verity R, Okell LC, Dorigatti I, Winskill P, Whittaker C, Imai N, et al. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: A model-based analysis. *Lancet Infect Dis.* 2020;20:669–77. 10.1016/S1473-3099(20)30243-7
 16. Salje H, Kiem C, Lefrancq N, Courtejoie N, Bosetti P, Paireau J, et al. Estimating the burden of SARS-CoV-2 in France. *Science.* 2020;369(6500):208–211. 10.1126/science.abc3517
 17. Roques L, Klein EK, Papaix J, Sar A, Soubeyrand S. Using early data to estimate the actual infection fatality ratio from Covid-19 in France. *Biology.* 2020;9(5):97. 10.3390/biology9050097
 18. Dana S, Simas AB, Filardi BA, Rodriguez RN, Lane Valiengo L, Gallucci-Neto J. Brazilian modeling of COVID-19 (BRAM-COD): A Bayesian Monte Carlo approach for COVID-19 spread in a limited data set context. *medRxiv.* 2020;2020:1-41 10.1101/2020.04.29.20081174

19. Mellan TA, Hoeltgebaum HH, Mishra S, Whittaker C, Schnakenberg RP, Gandy A, et al. Report 21: Estimating COVID-19 cases and reproduction number in Brazil. medRxiv. 2020;1–24. 10.1101/2020.05.09.20096701
20. Perez-Saez J, Lauer SA, Kaiser L, Regard S, Delaporte E, Guessous I, et al. Serology-informed estimates of Sars-CoV-2 infection fatality risk in Geneva, Switzerland. Lancet Infect Dis. 2020;21(4):e69-e70. 10.1016/S1473-3099(20)30584-3
21. Marra V, Quartin M. Bayesian estimate of the early COVID-19 infection fatality ratio in Brazil based on a random seroprevalence survey. Int J Infect Dis. 2021;111:190-195. 10.1016/j.ijid.2021.08.016.
22. Luo G, Zhang X, Zheng H, He D. Infection fatality ratio and case fatality ratio of COVID-19. Int J Infect Dis. 2021;113:43-46. 10.1016/j.ijid.2021.10.004
23. Gao J, Zheng P, Jia Y, Chen H, Mao Y, Chen S, et al. Mental health problems and social media exposure during COVID-19 outbreak. PloS One. 2020;15(4):e0231924. 10.1371/journal.pone.0231924
24. Rodriguez-Nava G, Yanez-Bello MA, Trelles-Garcia DP, Chung CW, Chaudry S, Khan AS, et al. Clinical characteristics and risk factors for mortality of hospitalized patients with COVID-19 in a community hospital: a retrospective cohort study. Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes. 2021;5(1):1–10. 10.1016/j.mayocpiqo.2020.10.007
25. Liu S, Yang L, Zhang C, Xiang Y, Liu Z, Hu S, et al. Online mental health services in China during the COVID19 outbreak. The lancet Psychiatry. 2020;7(4):e17-e18. 10.1016/S2215-0366(20)30077-8
26. García-Posada M, Aruachan-Vesga S, Mestra D, Humánez K, Serrano-Coll H, Cabrales H, et al. Clinical outcomes of patients hospitalized for COVID-19 and evidence-based on the pharmacological management reduce mortality in a region of the Colombian Caribbean. J Infect Public Health. 2021;14(6):696-701. 10.1016/j.jiph.2021.02.013
27. Sharma P, Sharma R. Impact of covid-19 on mental health and aging. Saudi J Biol Sci. 2021;28(12): 7046-7053. 10.1016/j.sjbs.2021.07.087
28. Aguiar M, Stollenwerk N. Condition-specific mortality risk can explain differences in COVID-19 case fatality ratios around the globe. Public Health. 2020;188:18-20. 10.1016/j.puhe.2020.08.021
29. Guan W-J, Liang W-H, Zhao Y, Liang H-R, Chen Z-S, Li Y-M, et al. Comorbidity and its impact on 1590 patients with covid-19 in China: a nationwide analysis. Eur Respir J 2020;55(5):2000547. 10.1183/13993003.00547-2020.
30. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, Mcginn T, Davidson KW, et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area. Jama. 2020;323(20):2052e9. 10.1001/jama.2020.6775.
31. Yang W, Kandula S, Huynh M, Greene S, Van Wye G, Li W, et al. Estimating the infection-fatality risk of SARS-CoV-2 in New York City during the spring 2020 pandemic wave: a model-based analysis. Lancet Infect Dis. 2021;21(2):203-212. 10.1016/S1473-3099(20)30769-6
32. Yang J, Zheng Y, Gou X, Pu K, Chen Z, Guo Q, et al. Prevalence of comorbidities in the novel Wuhan coronavirus (COVID-19) infection: a systematic review and meta-analysis. Int J Infect Dis. 2020;94:91-95. 10.1016/j.ijid.2020.03.017
33. Xiong D, Zhang L, Watson GL, Sundin P, Bufford T, Zoller JA, et al. Pseudo-likelihood based logistic regression for estimating COVID-19 infection and case fatality rates by gender, race, and age in California. Epidemics. 2020;33:100418. 10.1016/j.epidem.2020.100418
34. Alshogran OY, Altawalbeh SM, Al-Azzam SI, Karasneh R. Predictors of Covid-19 case fatality rate: An ecological study. Ann Med Surg. 2021;65:102319. 10.1016/j.amsu.2021.102319
35. Chen JT, Krieger N. Revealing the unequal burden of COVID-19 by income, race/ethnicity, and household crowding: US county versus zip code analyses. J Public Health Manag Pract. 2021;27:S46-S56. 10.1097/PHH.0000000000001263

36. Abate SM, Chekole YA, Estifanos M, Abate KH, Kabthymer RH. Prevalence and outcomes of malnutrition among hospitalized COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Nutrition ESPEN*. 2021;43:174-183. 10.1016/j.clnesp.2021.03.002
37. Díaz-Guio DA, Villamil-Gómez WE, Dajud L, Pérez-Díaz CE, Bonilla-Aldana K, Mondragón A, et al. Will the Colombian intensive care units collapse due to the COVID-19 pandemic? *Travel Med Infect Dis*. 2020;38:101746. 10.1016/j.tmaid.2020.101746
38. Rodriguez-Villamizar LA, Belalcázar-Ceron LC, Fernández-Niño JA, Marín-Pineda DM, Rojas OA, Acuña L, et al. Air pollution, sociodemographic and health conditions effects on COVID-19 mortality in Colombia: An ecological study. *Sci Total Environ*. 2021;756:144020. 10.1016/j.scitotenv.2020.144020
39. Rondón-Quintana HA, Zafra-Mejía CA. Covid 19 death analysis in Colombia. *Revista Cuidarte*. 2021;12(3):e1528. 10.15649/cuidarte.1528
40. Mikiko W, Risi R, Tuccinardi D. Obesity and SARS-CoV-2: a population to safeguard. *Diabetes Metab Res Rev*. 2020;36:e3325. 10.1002/dmrr.3325
41. Sánchez-Ramirez DC, Mackey D. Underlying respiratory diseases, specifically COPD, and smoking are associated with severe COVID-19 outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Respir Med*. 2020;171:106096. 10.1016/j.rmed.2020.10609639.
42. Sharma A, Garg A, Rout A, Lavie CJ. Association of obesity with more critical illness in COVID-19. *Mayo Clinic Proc*. 2020;95(9):2040–2042. 10.1016/j.mayocp.2020.06.046
43. Sharma JR, Yadav U.C.S. COVID-19 severity in obese patients: potential mechanisms and molecular targets for clinical intervention. *Obes Res Clin Pract*. 2021;15(2):163-171. 10.1016/j.orcp.2021.01.004
44. Yadav R, Aggarwal S, Singh A. SARS-CoV-2-host dynamics: Increased risk of adverse outcomes of COVID-19 in obesity. *Diabetes Metab Syndr: Clinical Res & Rev*. 2020;14(5):1355-1360. 10.1016/j.dsx.2020.07.030
45. Landecho MF, Marin-Oto M, Recalde-Zamacona B, Bilbao I, Frühbeck G. Obesity as an adipose tissue dysfunction disease and a risk factor for infections – Covid-19 as a case study. *Eur J Intern Med*. 2021;91:3-9. 10.1016/j.ejim.2021.03.031
46. Stefano M, Andrea B, Daniela C, Emanuela M, Lorena P, Daniela D, et al. Malnutrition risk as a negative prognostic factor in COVID-19 patients. *Clinical Nutrition ESPEN*. 2021;45:369-373. 10.1016/j.clnesp.2021.07.016
47. Mertz D, Kim TH, Johnstone J, Lam PP, Science M, Kuster SP, et al. Populations at risk for severe or complicated influenza illness: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 2013;347:f5061. 10.1136/bmj.f5061
48. Pearce DC, McCaw JM, McVernon J, Mathews JD. Influenza as a trigger for cardiovascular disease: An investigation of serotype, subtype and geographic location. *Environ Res*. 2017;156:688–696. 10.1016/j.envres.2017.04.024.
49. Goeijenbier M, van Sloten TT, Slobbe L, Mathieu C, van Genderen P, Beyer W, Osterhaus A. Benefits of flu vaccination for persons with diabetes mellitus: A review. *Vaccine*. 2017;35(38):5095–5101. 10.1016/j.vaccine.2017.07.095.
50. Tekin S, Keske S, Alan S, Batirel A, Karakoc C, Tasdelen-Fisgin N, et al. Predictors of fatality in influenza A virus subtype infections among inpatients in the 2015–2016 season. *Int J Infect Dis*. 2019;81:6-9. 10.1016/j.ijid.2019.01.005
51. Zhang ZXZ, Kyaw W, Ho HJ, Tay MZ, Huang H, Hein AA, et al. Seasonal influenza-associated intensive care unit admission and death in tropical Singapore, 2011–2015. *J Clin Virol*. 2019;117:73-79. 10.1016/j.jcv.2019.06.005
52. Zou Q, Zheng S, Wang X, Liu S, Bao J, Yu F, et al. Influenza A-associated severe pneumonia in hospitalized patients: Risk factors and NAI treatments. *Int J Infect Dis*. 2020;92:208-213. 10.1016/j.ijid.2020.01.017.
53. Polidori MC, Sies H, Ferrucci L, Benzing T. COVID-19 mortality as a fingerprint of biological age. *Ageing Res Rev*. 2021;67:101308. 10.1016/j.arr.2021.101308

54. Tian F, Liu X, Chao Q, Qian Z, Zhang S, Qi L, et al. Ambient air pollution and low temperature associated with case fatality of COVID-19: A nationwide retrospective cohort study in China. *The Innovation*. 2021;2(3):100139. 10.1016/j.xinn.2021.100139
55. Henao-Cespedes V, Garcés-Gómez YA, Ruggeri S, Henao-Cespedes TM. Relationship analysis between the spread of COVID-19 and the multidimensional poverty index in the city of Manizales, Colombia. *Egypt J Remote Sens Space Sci*. 2021, in press. 10.1016/j.ejrs.2021.04.002
56. Sepulveda ER, Brooker A. Income inequality and COVID-19 mortality: Age-stratified analysis of 22 OECD countries. *SSM - Population Health*. 2021;16:100904. 10.1016/j.ssmph.2021.100904
57. Wildman J. COVID-19 and income inequality in OECD countries. *Eur. J. Health Econ*. 2021;22(3):455-462. 10.1007/s10198-021-01266-4
58. Ghosh D, Bernstein JA, Mersha TB. COVID-19 pandemic: the African paradox. *J Glob Health*. 2020;10(2):020348. 10.7189/jogh.10.020348
59. Lawal Y. Africa's low COVID-19 mortality rate: a paradox? *Int. J. Infect. Dis.* 2020;102:118-122. 10.1016/j.ijid.2020.10.038.
60. Birner R, Blaschke N, Bosch C, Daum T, Graf S, Guttler D et al. 'We would rather die from Covid-19 than from hunger' - Exploring lockdown stringencies in five African countries. *Glob Food Sec*. 2021;31:100571. 10.1016/j.gfs.2021.100571.
61. Kulohoma BW. COVID-19 risk factors: The curious case of Africa's governance and preparedness. *Scientific African*. 2021;13:e00948. 10.1016/j.sciaf.2021.e00948
62. Ngere I, Dawa J, Hunsperger E, Otieno N, Masika M, Amoth P, et al. High seroprevalence of SARS-CoV-2 but low infection fatality ratio eight months after introduction in Nairobi, Kenya. *Int J Infect Dis*. 2021;112:25-34. 10.1016/j.ijid.2021.08.062
63. Njenga MK, Dawa J, Nanyangi M, Gachohi J, Ngere I, Letko M, et al. Why is There Low Morbidity and Mortality of COVID-19 in Africa? *Am J Trop Med Hyg* 2020;103:564–9. 10.4269/ajtmh.20-0474
64. Diop BZ, Ngom M, Biyong CP, Biyong JNP. The relatively young and rural population may limit the spread and severity of COVID-19 in Africa: a modelling study. *BMJ Glob Health*. 2020;5:e002699. 10.1136/bmjgh-2020-002699.
65. Afolabi MO, Folayan MO, Munung NS, Yakubu A, Ndow G, Jegede A, Ambe J, Kombe F. Lessons from the Ebola epidemics and their applications for COVID-19 pandemic response in sub-Saharan Africa. *Dev. World Bioeth*. 2021;21(1):25-30. 10.1111/dewb.12275.
66. Tso FY, Lidenge SJ, Peña PB, Clegg AA, Ngowi JR, Mwaiselage J, et al. High prevalence of pre-existing serological cross-reactivity against severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) in sub-Saharan Africa. *Int J Infect Dis*. 2021;102:577-583. 10.1016/j.ijid.2020.10.104
67. Benítez MA, Velasco C, Sequeira AR, Henríquez J, Menezes F, Paolucci F. Responses to COVID-19 in five Latin American countries. *Health Policy Technol*. 2020;9(4):525-559. 10.1016/j.hlpt.2020.08.014
68. Han J, Shi L-X, Xie Y, Zhang Y-J, Huang S-P, Li J-G, et al. Analysis of factors affecting the prognosis of COVID-19 patients and viral shedding duration. *Epidemiol Infect*. 2020;148:e125. 10.1017/S0950268820001399
69. Rosas F, Vargas JP. 2015. Capacidad de respuesta hospitalaria distrital en Bogotá ante un evento con múltiples víctimas. Especialización en Medicina de Emergencias, Universidad del Rosario. <https://repository.urosario.edu.co/handle/10336/10154>
70. Guerrero N, Yépez-Ch M C. Factores asociados a la vulnerabilidad del adulto mayor con alteraciones de salud [Factors associated with the vulnerability of the elderly with health disorders]. Universidad y Salud. 2015;17(1):121-31.
71. Sánchez-Villegas P, Daponte A. Modelos predictivos de la epidemia de COVID-19 en España con curvas de Gompertz. *Gaceta Sanitaria*. 2021;35(6):585-589. 10.1016/j.gaceta.2020.05.005

72. Torrealba-Rodríguez O, Conde-Gutiérrez RA, Hernández-Javier AL. Modeling and prediction of COVID-19 in Mexico applying mathematical and computational models. *Chaos, Solitons & Fractals*. 2020;138:109946. 10.1016/j.chaos.2020.109946
73. Shen CY. Logistic growth modelling of COVID-19 proliferation in China and its international implications. *Int J Infect Dis.* 2020;96:582-589. 10.1016/j.ijid.2020.04.085
74. Aviv-Sharon E, Aharoni A. Generalized logistic growth modeling of the COVID-19 pandemic in Asia. *Infect Dis Model.* 2020;5:502-509. 10.1016/j.idm.2020.07.003
75. Wang P, Zheng X, Li J, Zhu B. Prediction of epidemic trends in COVID-19 with logistic model and machine learning technics. *Chaos, Solitons & Fractals*. 2020;139:110058. 10.1016/j.chaos.2020.110058
76. Mohammadi F, Pourzamani H, Karimi H, Mohammadi M, Mohammadi M, Ardalan N, et al. Artificial neural network and logistic regression modelling to characterize COVID-19 infected patients in local areas of Iran. *Biomedical J.* 2021;44(3):304-316. 10.1016/j.bj.2021.02.006
77. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern. Med.* 2020;180(7):934-943. 10.1001/jamainternmed.2020.0994
78. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* 2020;382:727-733. 10.1056/NEJMoa2001017
79. Ministerio de Salud (MINSALUD). Lineamientos para la prevención, diagnóstico, manejo y control de casos de Influenza. 2018 [Consulted on 1 of May of 2021]. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/lineamientos-prevencion-diagnostico-manejo-control-casos-influenza.pdf>.

Efecto del factor de crecimiento fibroblástico dos (FGF-2), en la reducción de la senescencia en células madre mesenquimales aisladas de gelatina de Wharton

Fibroblastic growth factor two (FGF-2), in reducing the senescent effect on mesenchymal stem cell isolated from Wharton´s jelly

Andrea Catalina Rubio Vargas¹, Jessica Paola Alcázar², Laura Alejandra Lozano Trujillo³, Diana Katherine Garzón Perdomo⁴, Angélica Rocío Bonilla Porras⁵, Olivia Teresa González Gay⁶, Liliana Francis Turner⁷

Resumen

Introducción. Las células madre mesenquimales han generado interés en la ingeniería de tejidos, debido a sus propiedades proliferativas y capacidad de reparación de tejidos, sin embargo, para un trasplante exitoso, es necesario aumentar el número de células mediante un cultivo in-vitro. Durante este proceso la capacidad proliferativa disminuye, provocando cambios en la morfología y funcionalidad celular y afectando la viabilidad del cultivo, este estado se conoce como senescencia celular y como posibles causales, se ha considerado el estrés oxidativo y la falta de factores de crecimiento. Objetivos: Evaluar el efecto de FGF-2 sobre la senescencia de un cultivo de células madre mesenquimales aisladas de gelatina de Wharton y su papel en la regulación del estrés oxidativo. **Metodología.** Se añadieron dosis de 3,5 y 7,5 ng de FGF-2 al cultivo. Durante los pasajes 5 y 7, se estimó tanto

1. Bióloga, Programa de Biología. Grupo de Modelos Experimentales para las Ciencias Zootécnicas. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima, Ibagué- Tolima.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7544-7008>

2. Ms. Ciencias, profesora del programa de Biología. Grupo de Modelos Experimentales para las Ciencias Zootécnicas. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima, Ibagué, Tolima.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5598-4436>

3. Bióloga, Programa de Biología. Grupo de Modelos Experimentales para las Ciencias Zootécnicas. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima, Ibagué- Tolima.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9226-2926>

4. Bióloga, Programa de Biología. Grupo de Modelos Experimentales para las Ciencias Zootécnicas. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima, Ibagué- Tolima.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5101-3261>

5. Ph.D profesora, Institución: Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9580-9915>

6. Ph.D. Investigadora del Centro de Neurociencias de Cuba.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5026-1191>

7. Ph.D, profesor Asociado, Facultad de ciencias . Grupo de Modelos Experimentales para las Ciencias Zootécnicas. Facultad de Ciencias Universidad del Tolima, Ibagué, Tolima

Correo electrónico de correspondencia: acrubiov@ut.edu.co

► <https://doi.org/10.22490/24629448.6188>

Recibido: 16/03/2022
Aceptado: 11/07/2022

la senescencia celular como la presencia de ROS (especies reactivas de oxígeno). **Resultados.** Se obtuvo en el pasaje 5, una diferencia significativa del 99,5% entre el control (+) con respecto a los tratamientos con FGF-2, sin embargo, en el pasaje 7 se observó un aumento en la producción de la enzima β -galactosidasa y cambios morfológicos, confirmando un estado senescente en el cultivo en todos los tratamientos evaluados. **Conclusión.** Las dosis utilizadas en este estudio contribuyeron positivamente a disminuir el proceso senescente en el cultivo celular, además se determinó, que el FGF-2 puede prolongar el tiempo de cultivo, retardando parcialmente la concentración de especies reactivas de oxígeno.

Palabras claves: células madre, estrés oxidativo, especies reactivas de oxígeno, factor de crecimiento fibroblástico 2, gelatina de Wharton, senescencia celular.

Abstract

Introduction. Mesenchymal stem cells have been generated interest in tissue engineering, due to their proliferative properties and tissue repair capacity, however, for a successful transplant process, it is necessary to increase the number of cells in a culture expansion process. During this process the proliferative capacity is limited, causing changes in cell morphology and functionality affecting the viability of the culture, this state is known as cell senescence. Oxidative stress and deregulation of growth factors are considered as reasons. **Aims.** To evaluate the effect of FGF-2 on the senescence of a mesenchymal stem cells culture isolated from Wharton's jelly and its role in the regulation of oxidative stress. Methodology: 3,5 and 7,5 ng doses of FGF-2 were added to the culture medium from passage 2, then the senescence of the culture was evaluated and the presence of reactive oxygen species was determined during passages 5 and 7. **Results.** We observed that in passage 5, there is a significant difference 99.5% between the control (+) concerning the FGF-2 treatments, however, in passage 7, an increase in the production of the enzyme β -galactosidase was observed and changes in morphology such as: increase in size and elongated shape of the cell, confirming a senescent state on the culture in all the treatments evaluated. **Conclusion.** The doses used in this study contributed positively to decrease this process in a cell culture, also, the FGF- 2 can prolong the cultivation time, partially decreasing the concentration of reactive oxygen species.

Keywords: cellular senescence, mesenchymal stem cells, oxidative stress, fibroblast growth factor 2, reactive oxygen species, Wharton jelly.

Introducción

Las Células Madre Mesenquimales (CMM) han sido utilizadas en diferentes tratamientos como terapias neurodegenerativas (1,2), reconstrucción de tejidos (3), enfermedades renales (4) y del sistema nervioso (5) entre otros (6,7,8). Como fuentes de aislamiento, se encuentran el cordón umbilical (CU), tejido adiposo (TA) y médula ósea (MO); entre estos, las células obtenidas del CU, especialmente de la gelatina de Wharton, representan una nueva alternativa para las terapias regenerativas, dado que su origen no compromete al paciente en el momento de la extracción con un procedimiento invasivo, como ocurre con las CMM adultas y tampoco genera problemáticas bioéticas (1). Dentro de las ventajas que tienen las CMM- de gelatina de Wharton, se encuentran su potencial proliferativo, clonogénico y una baja expresión de antígenos activadores de respuesta inmunitaria (9), adicionalmente la cantidad de CMM obtenidas es mayor, (aproximadamente 400 000 células) en comparación con otras fuentes como la MO (aproximadamente 10.000 células) y su cultivo *in-vitro* no requiere de altos costos. Además se está dando uso a un órgano que usualmente es tratado como desecho biológico (10–12).

A pesar de que las CMM- de gelatina de Wharton, podrían ser la mejor fuente, de uso clínico, para establecer un trasplante exitoso, es necesario aumentar el número de células mediante la expansión en cultivo *in vitro*

(13–15). Aunque el cultivo primario de estas células se mantiene en condiciones estables, simulando su nicho celular, el crecimiento de estas es limitado (16,17), durante este proceso, la tasa de replicación celular se reduce por daño en el ADN generado por estrés oxidativo y disminución en la producción de factores de crecimiento, que provocan un estado de fase G0/G1 (18,19). Consecuentemente, la morfología, el crecimiento y las capacidades funcionales se alteran, afectando la viabilidad del cultivo; este proceso se denomina senescencia celular (20,21), estado que inicia desde el primer pasaje y que se ve reflejado en un aumento de la enzima B-galactosidasa (20).

Para mitigar la senescencia celular y preservar el potencial de las CMM, se han propuesto diferentes estrategias, una de ellas es la adición de factores de crecimiento externos al medio de cultivo (22); El FGF-2 se considera un factor fundamental en la etapa del desarrollo embrionario por su capacidad proliferativa y de diferenciación (23,24), su aplicación exógena se ha descrito como un componente clave para la autorrenovación y la pluripotencialidad, regulando además la actividad de la telomerasa (23), este factor ha sido reportado, como promotor de la renovación celular y más recientemente ha sido descrito como supresor de la senescencia *in vitro* (25).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el posible efecto de FGF-2 sobre la senes-

cencia en cultivos de CMM y su papel en la regulación del estrés oxidativo. Se estimó la senescencia y el estrés oxidativo de las CMM tratadas con FGF-2 a dosis de 3, 5 y 7,5 ng durante los pasos 5 y 7 mediante la detección de la actividad de la enzima β -galactosidasa y la presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS).

Materiales y métodos

Materiales y reactivos

Medio Eagle modificado Dulbecco bajo en glucosa con rojo fenol (DMEM) (Sigma-Aldrich[®]) ref. d5523, factor de crecimiento fibroblástico (FGF-2) (Peprotech[®]) ref.405-33, suero fetal bovino (SFB) (Gibco[®]) y 1% de penicilina-estreptomicina (P/E) (Biowest). Kit de ensayo de detección de especies de oxígeno (fluorescencia naranja) (Abcam[®]) ref: ab186028.

Establecimiento del Cultivo

Las CMM fueron obtenidas a partir de gelatina de Wharton CMM-gW, de CU, donadas por la Universidad de Antioquia e identificadas como el vial #4 en pasaje #1. Fueron descongeladas el 09/10/2017 en el Laboratorio de cultivo celular, de la Universidad del Tolima, en condiciones de baño maría a una temperatura de 37°C durante 2 min; la solución celular se llevó a un tubo falcón de 15mL y se centrifugó a 1500 rpm

durante 3 min, luego, el sobrenadante fue removido y completado a un volumen de 1mL utilizando medio de cultivo, DMEM con rojo fenol, suplementado con 15% de SFB y 1% de P/E. El recuento de células se realizó mediante cámara de Neubauer y las células se sembraron en un Flask T75 (Flasks de 75 cm² - NEST[®]) a una densidad celular de 1 x 10⁶ y se incubaron a 37°C con CO₂ al 5%. El primer cambio de medio, se realizó después de 4 días, cuando las células alcanzaron una confluencia del 80 al 100%, se tripsinizaron con Trypsin-EDTA 0,05% (Gibco[®]) y se cultivaron en flasks T23 (FlaskT25 cm² - TPP[®]) a una densidad de 2 x 10⁵ células en DMEM con 15% FBS y 1% de P/E. Pasadas 24 horas se realizó cambio de medio, el cual se realizó en cada pasaje hasta llegar al sexto pase. Para los ensayos experimentales, las células se sembraron en placas de 96 pozos a una densidad celular de 1x10³, y se mantuvieron bajo las condiciones descritas anteriormente; para los tratamientos con FGF-2, este se añadió en el medio de cultivo en dos concentraciones diferentes: 3,5 y 7,5 ng, durante cada cambio de medio, es decir, cada 2 días, consecutivamente desde el establecimiento del cultivo.

Senescencia asociada a la actividad de la β -galactosidasa

Las CMM se cultivaron en placas de 96 pozos, luego se fijaron con paraformaldehído al 4 % durante 5 minutos, posteriormente se tiñeron durante 12h en solución X-Gal (1

mg/ml de 5-bromo-4-cloro3-indolil-D-galactopiranósido, 2 mM de MgCl₂, 5 mM de K₄F₆, 5 mM de K₃Fe₆, 150 mM de NaCl, disueltas en tampón de ácido cítrico/fosfato (concentraciones finales: ácido cítrico 20 mM, fosfato de sodio 40 mM, pH 5,5) .

Ensayo de estrés oxidativo

Se identificaron las ROS, durante los pasajes 5 y 7. Esta prueba se realizó en placas de 96 pozos, donde se cultivó una densidad de 2,5x10³ células/cm², hasta obtener una confluencia entre 50-70%. Las células se tiñeron con el kit de ensayo de detección de ROS (Orange Fluorescence, Abcam) (ab18608) (abcam[®]) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Como control positivo, se utilizaron células tratadas con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 0,2 mM en PBS (1x). Paralelamente, el grupo control fue tratado con la misma solución de PBS sin H₂O₂ durante 4 h. Finalmente las células se observaron por medio del Floid[™]Cell Imaging Station a intensidad de 570nm.

Viabilidad nuclear

La viabilidad celular, se determinó mediante cuantificación con tinción de azul de tripron, en una cámara neubauer. La integridad nuclear se determinó con tinción de DAPI, identificando, los cambios morfológicos que presentan los núcleos y diferenciando aquellos que presentaban cromatina condensada y fragmentación, durante los pasajes 5 y 7.

Análisis estadístico

Se realizaron 5 pruebas en el cultivo de CMM-gW tratadas con las dos dosis de FGF-2 (3,5 ng y 7,5 ng) durante los pasajes 5 y 7; se llevaron a cabo 5 réplicas por experimento. Se utilizó el programa estadístico Infostat (versión 2014) donde la distribución de datos fue analizada con el test de Shapiro- Wilks, y el análisis de comparación entre grupos fue realizado con el test ANOVA con medidas repetidas para los datos paramétricos y el test de Kruskall - Wallis para los datos no paramétricos. Las diferencias estadísticas fueron consideradas con un valor p<0,05.

Resultados

Cultivo de CMM

Durante la aplicación de los tratamientos con FGF-2 no se observaron cambios en la morfología celular respecto al grupo control. Adicionalmente durante los pasajes 3, 4 y 5 no se detectaron cambios entre los tratamientos de FGF-2 y controles. Por otra parte, en el pasaje 4, se evidencia un incremento en la proliferación celular de 7% para el tratamiento 3,5 ng y de 18% en el tratamiento de 7,5ng, respecto al control.

La proliferación celular se fue reduciendo durante cada aumento de pasaje, este efecto se observó tanto en los controles como en

los tratamientos, que, aunque también presentaron una disminución de la viabilidad, el porcentaje de células en cultivo fue mayor en las células tratadas con FGF-2.

En el pasaje 5, el control presentó una confluencia (61%), el tratamiento de FGF-2_{3,5ng} (68%) mientras que el tratamiento de FGF-2_{7,5ng} permaneció estable (86%), para el pasaje 6 se presentó una tendencia al descenso de la proliferación, en el cultivo control

(39%), FGF-2_{3,5ng} (55%), FGF-2_{7,5ng} (79%); para el pasaje 7, la confluencia del cultivo control (34%), y los tratamientos FGF-2_{3,5ng} (53%), FGF-2_{7,5ng} (62%). Las dosis de FGF-2, muestran un mayor porcentaje de proliferación celular respecto al control y una disminución de la viabilidad del cultivo de manera acentuada demostrando que la aplicación de este factor, reduce el proceso de senescencia y muerte celular prolongando la vida útil del cultivo (figura 1).

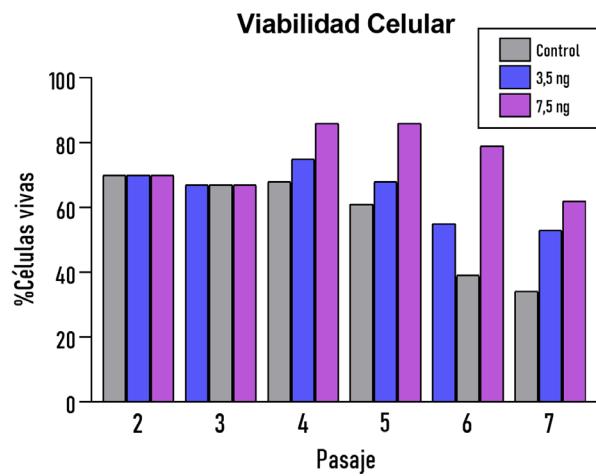


Figura 1. Viabilidad celular. Método Azul de tripán.

En el pasaje 5, la viabilidad celular, mostró, que los datos no tienen una distribución normal ($p<0,0001$), por lo tanto se realizó la prueba de Kruskal Wallis, donde se evidenciaron núcleos sin daño en los grupos experimentales FGF-2_{3,5ng} y FGF-2_{7,5ng} con una significancia 99,5 ($p<0,001$). Este resultado también se comprobó en el porcentaje de núcleos que presentan daño por fragmentación, donde las dos dosis de FGF-2,

presentan una diferencia significativa respecto al control positivo (en este caso se indujo a daño celular con H₂O₂) ($p<0,01$). La viabilidad de núcleos en el pasaje 7, evidenció una diferencia significativa entre los tratamientos de FGF-2 y el control positivo, ($p<0,001$). Estas diferencias no se presentan en el control negativo, que es el cultivo sin tratamientos de FGF-2 (figura 2 y 3).

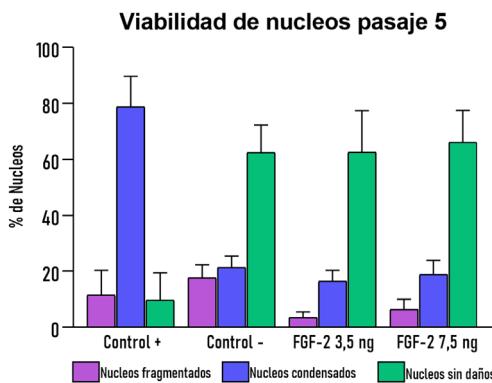


Figura 2. Viabilidad celular mediada por la fragmentación nuclear viabilidad de Núcleos, utilizando DAPI, en el pasaje 5.

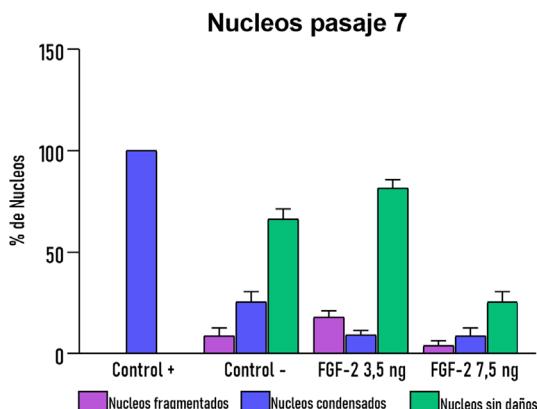


Figura 3. Viabilidad de Núcleos, utilizando DAPI, en el pasaje 7. Diferencias significativas (*) p<0,05; (**) p<0,01; (***) p<0,001; (****) p<0,0001.

Senescencia asociada a la actividad de la β -galactosidasa

Para determinar la senescencia celular se analizó el porcentaje del área total de células senescentes en el pasaje 5 y pasaje 7; los resultados en el pasaje 5, muestran una diferencia significativa ($p<0,0001$) entre los tratamientos de FGF-2 con respecto al control positivo, cambios que se ven reflejados en la morfología, como aumento de tamaño

y forma alargada, que junto con la presencia del color azul generado por la producción lisosomal de la enzima β -galactosidasa, confirman el estado senescente del cultivo (Figuras 4 y 5). Esta diferencia significativa en el pasaje 7 fue ($p<0,001$) entre FGF-2 _{3,5 ng} con respecto a ambos controles (+) y (-), pero FGF-2 _{7,5 ng}. El pasaje 7 no mostró una diferencia estadística, respecto al control negativo.

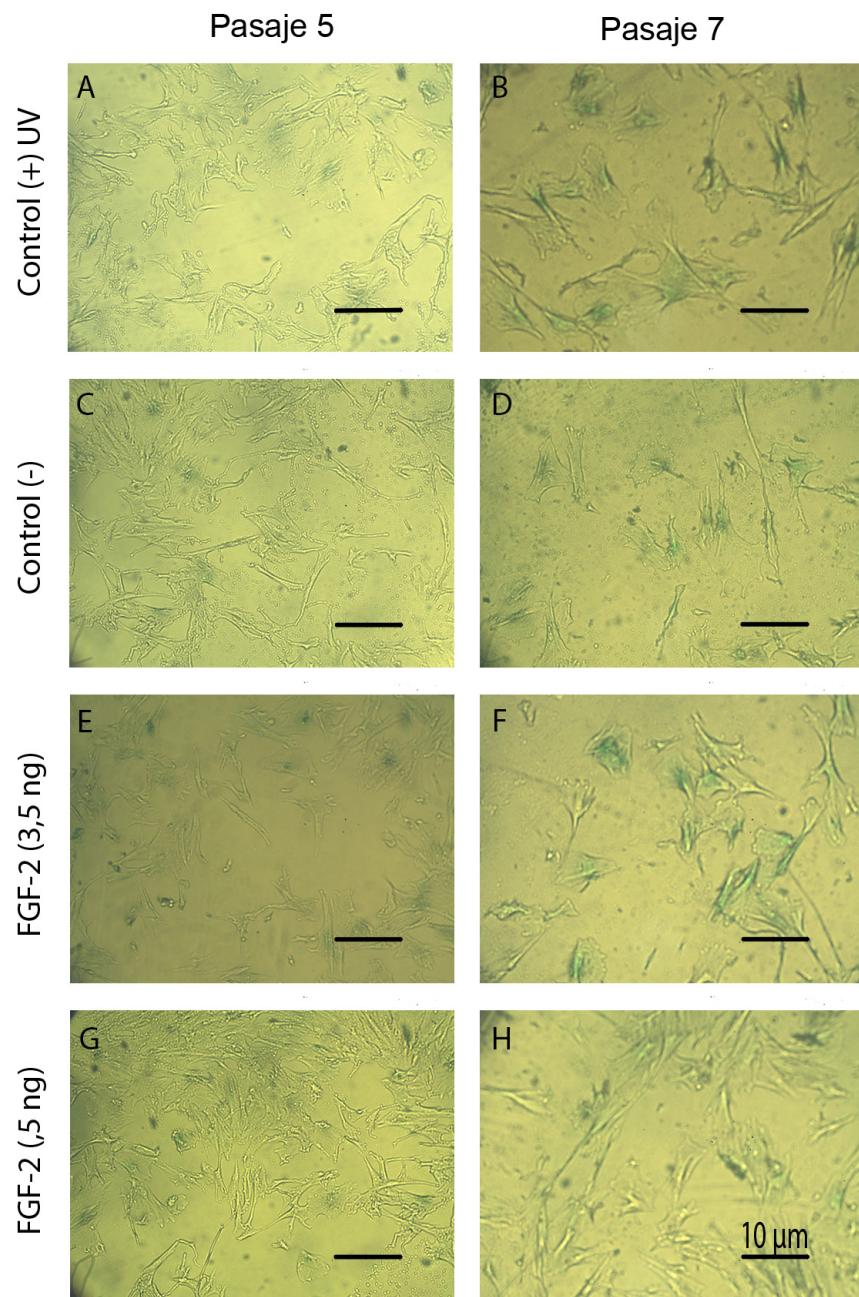


Figura 4. Ensayo de β -galactosidasa asociada a la senescencia.

A) Control positivo mediante UV, en el paso 5. B). Control positivo mediante UV, en el paso 7. C). Control negativo, en el pasaje 5. D) Control negativo en el pasaje 7. E) FGF-2 3,5 ng en el pasaje 5, F) FGF-2

3,5 ng en el pasaje 7. G) FGF-2 7,5 ng en el pasaje 5 H) FGF-2 7,5 ng en el pasaje 7. Micrografías tomadas en microscopio invertido a (20X), barra de escala = 10 μ m

Ensayo de β -galactosidasa

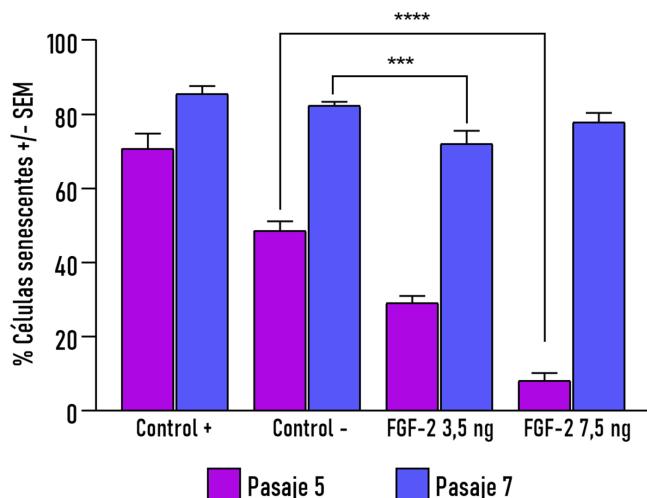


Figura 5. Ensayo de β -galactosidasa asociada a la senescencia. Diferencias significativas frente al control

* $p<0,05$, ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ y **** $p<0,0001$. Los datos se representan como media \pm SEM.

Ensayo de estrés oxidativo

El estado senescente ha sido asociado con la producción de radicales libres, por tal motivo se evaluó la producción de estos, tanto en el pasaje 5 como en el pasaje 7 donde se determinó a partir de la intensidad de la fluorescencia presentada por la actividad de ROS en las CMM. Se determinó que la producción de ROS se presen-

tó tanto en los controles positivos, como en los negativos (figura 6). En el pasaje 5, solo el tratamiento con FGF-2 7,5 ng mostró una disminución en la detección de ROS con respecto al control negativo ($p<0,0001$). Lo mismo ocurrió en el pasaje 7, las CMM tratadas con FGF-2 7,5 ng demostraron una disminución significativa ($p<0,0001$) entre el control negativo y el positivo (Figuras 6, 7 y 8).

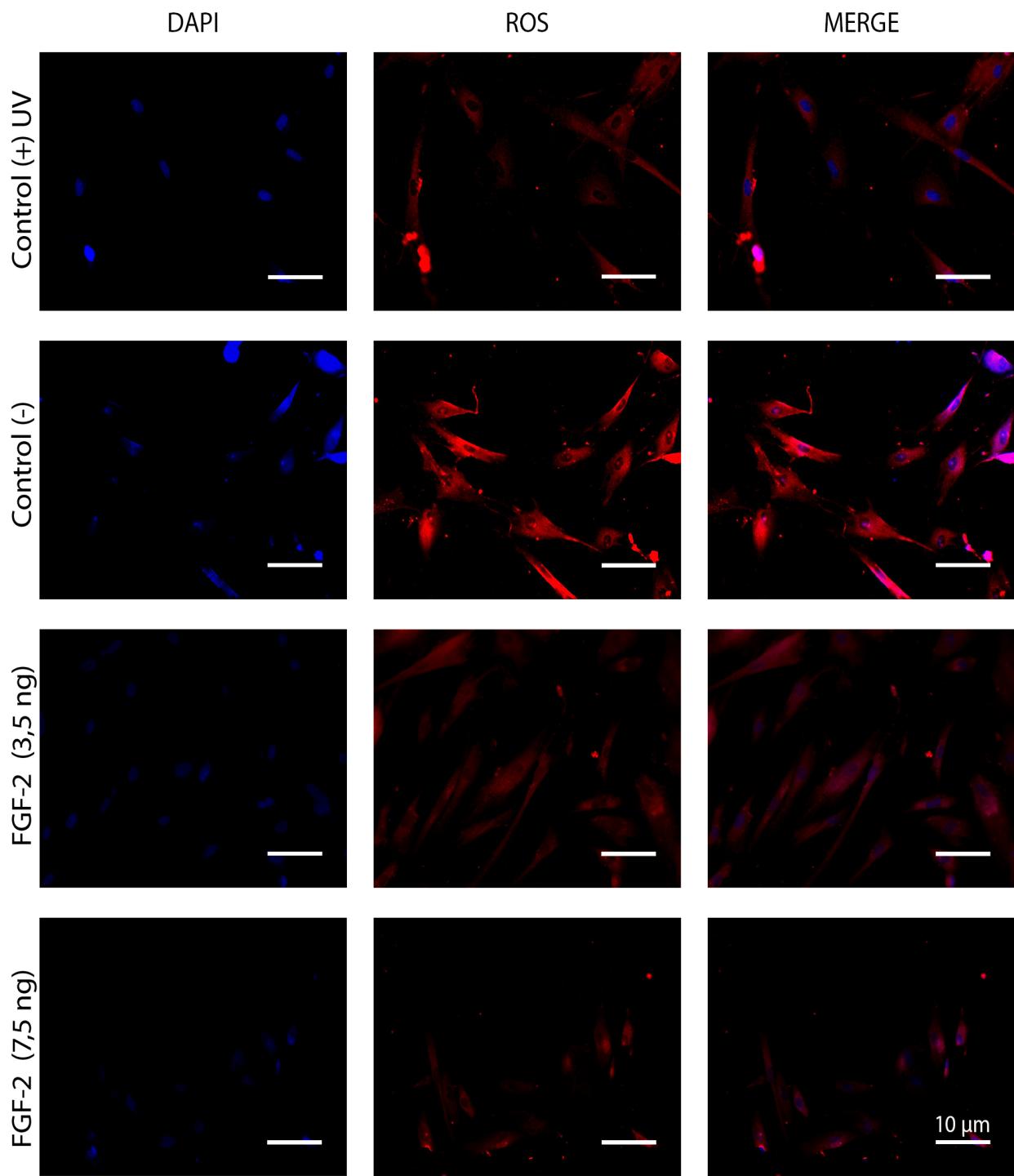


Figura 6. Estrés oxidativo de MSC en el Paso 5. Microfotografías (20X), barra de escala = 10 μ m.

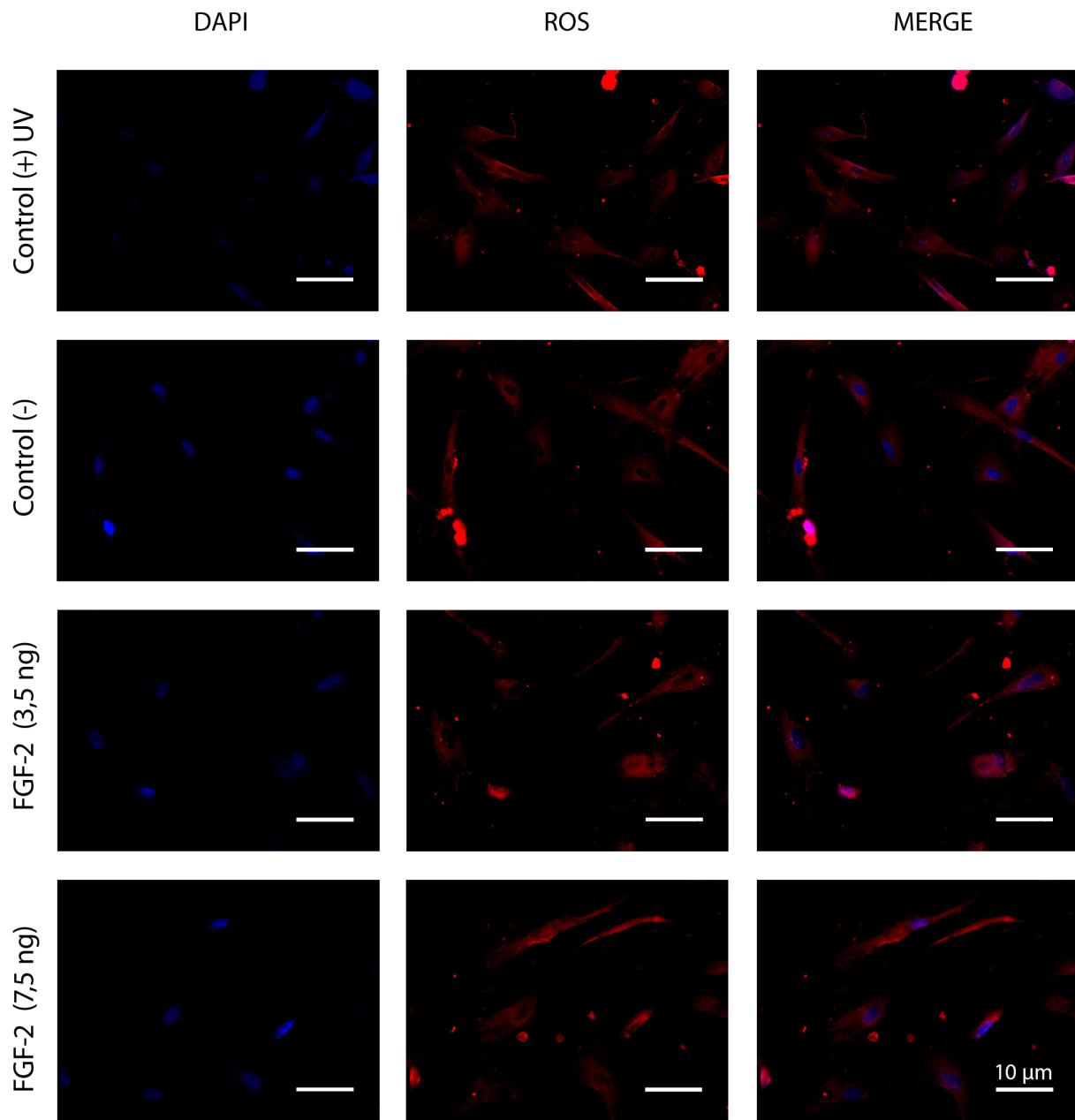


Figura 7. Estrés oxidativo de MSC en el Paso 7. Microfotografías, tomadas de Floid™ (20X), barra de escala = 10 µm

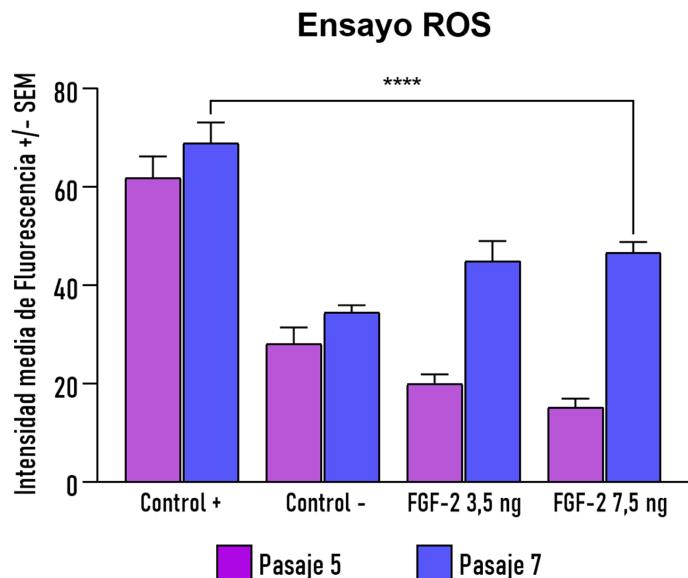


Figura 8. Estrés oxidativo de MSC en los pasajes 5 y 7. Diferencias significativas frente al control
* $p<0,05$, ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ y **** $p<0,0001$. Los datos se representan como media \pm SEM.

Discusión

El proceso de senescencia celular fue descrito por Hayflick en 1961, donde la capacidad proliferativa del cultivo disminuye progresivamente (26), presentando cambios en la morfología y funcionalidad de las células, el cual se asocia con una disminución de la enzima telomerasa y la producción de radicales libres (27–29). En las células senescentes aumenta el tamaño y se activa la actividad de la enzima β -galactosidasa (10,19,30), estas células, además, secretan factores como citoquinas, que afectan el crecimiento y la migración celular, experimentando una detención irreversible del crecimiento, pero siendo metabólicamente activas (19).

En las CMM cultivadas in-vitro, la activación de la senescencia se da de manera

prematura y se denomina senescencia replicativa, la cual se ve inducida por el estrés oxidativo, afectando no solo la proliferación celular, sino también la capacidad de las células de diferenciarse hacia linaje: osteogénico y adipogénico (19). En este estudio se encontró que la aplicación exógena FGF-2 en diferentes dosis, puede reducir este efecto. Sin embargo, en el cultivo a largo plazo se observó un aumento de células senescentes, tanto en los tratamientos con FGF-2 como en el control, este cambio se generó de manera consecuente con el aumento del pasaje celular (Figura 4).

La enzima β -galactosidasa utilizada como marcador de senescencia en este estudio, es una hidrolasa localizada en el lisosoma que cataliza la hidrólisis de terminal residuos de galactosa ligados a β en glicoproteínas

y glicolípidos (27). La actividad de la enzima β -galactosidasa, disminuye durante la proliferación y solo se detecta cuando hay inducción de senescencia, al haber un aumento lisosomal (28), por lo que se sugiere, que el aumento de vesículas lisosomales, productoras de esta enzima, son causados por una acumulación de proteínas, lípidos, ARN y ADN, que afectan las condiciones celulares.

Otros autores refieren que los cambios morfológicos asociados a la senescencia también pueden estar relacionados con un posible bloqueo en la división celular, dado por el acortamiento de los telómeros, y la activación de genes como el P53 (32–34).

Al realizar el ensayo de la producción de la enzima β -galactosidasa en el pasaje 5, se evidencia una diferencia significativa entre el control y tratamientos con FGF-2 y a pesar del aumento de células senescentes en todos los tratamientos, esta diferencia también se presenta en el pasaje 7 (Figuras 4 y 5). Este resultado concuerda con los generados en el estudio de Ito y colaboradores (25), donde se observó que el cultivo de CMM – obtenidas de medula ósea-, a largo plazo, detuvo su crecimiento celular en fase G1, y que la aplicación de FGF-2 suprimió durante los primeros 10 días de cultivo este efecto senescente; sin embargo, al día 50 el cultivo presentó 40% de senescencia, no obstante, en los tratamientos control (en ausencia de FGF-2) el porcentaje de células

senescentes a los 10 días fue del 20,5% y a los 50 días este porcentaje había aumentado al 57,6%; finalmente después de 150 días de cultivo, todas las células incluyendo las del tratamiento con FGF-2 mostraron una disminución en su capacidad proliferativa (25).

De esta manera se concluye con los resultados obtenidos, que el FGF-2 podría actuar como un atenuante del efecto senescente más no como un supresor de la senescencia en cultivo, dado a que actúa retrasando su efecto en el cultivo. A esto cabe resaltar la importancia que tiene la fuente de obtención de las CMM y una adecuada suplementación con factores de crecimiento para ampliar la vida útil del cultivo (31). Adicionalmente la suplementación de FGF-2 en el medio de cultivo no solo podría posponer la aparición de la senescencia, sino que también ayudaría a mantener la capacidad desdiferenciación de las células.

Otros autores han reportado que la deficiencia de FGF2 acelera el proceso de senescencia, dado a que el FGF-2 contribuye a mantener activa la división celular, evitando que las células entren en fase G1, (35,36).

La senescencia celular puede ser inducida por especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales son moléculas inestables y su acumulación conduce al estrés oxidativo, daño al ADN y daño a las proteínas, en un ambiente in-vivo, este proceso se ve mediado por con antioxidantes (27). El estrés oxidativo

resultante del aumento de la producción de ROS, puede causar daños severos a las macromoléculas biológicas, afectando la proliferación celular y provocando la senescencia celular (37, 38). En este estudio se demostró que el FGF-2 en las CMM no solo contribuye al mantenimiento del cultivo, también promueve la regulación de las ROS intracelulares, dado que los resultados indican que en el pasaje 5 y 7, la diferencia entre los tratamientos con FGF-2 y controles, presentan diferencia significativa con respecto al control (-).

Sin embargo, las ROS se han implicado progresivamente en la regulación fisiológica y la coordinación de diferentes procesos celulares, su influencia en el destino de las células madre podría revelar cómo el envejecimiento de las células madre está relacionado con la enfermedad asociada con la edad (39), pero los niveles altos de ROS causan la senescencia de las células madre y muerte (40), por lo que se requieren estudios sobre las proteínas responsables de la senescencia y muerte celular en condiciones altas de ROS en células madre (41).

Conclusión

En este estudio, se encontró que el FGF-2 redujo el efecto del estrés oxidativo sobre el cultivo de las CMM a pesar que el efecto senescente y la producción de ROS es un estado irreversible del cultivo celular. Las dosis evaluadas contribuyeron a ate-

nuar este proceso, prolongando la vida útil del cultivo y de esta manera promover a las CMM de gelatina de wharton por sus capacidades proliferativas, como un potencial terapéutico que junto con la exposición de factores de crecimiento, como el FGF-2, podrían mejorar su utilidad, en cultivo *invitro*, generando la cantidad necesaria para un trasplante exitoso. Adicionalmente la suplementación de FGF-2 en el medio de cultivo no solo podría retrasar la aparición de la senescencia, sino que también ayudaría a mantener la regulación de ROS en el cultivo, de esta manera se propone, ampliar los estudios en este campo de investigación.

Disponibilidad de datos

Los datos utilizados para respaldar los hallazgos de este estudio están disponibles del autor correspondiente a pedido razonable.

Declaración de financiación

Este trabajo fue financiado por EOCYT y la oficina de Investigación y Desarrollo Científico de la Universidad del Tolima, Proyecto Código 220220516

Conflicto de interés

Los autores señalan que no tienen ningún conflicto de interés.

Agradecimientos

A la Universidad del Tolima ya su Dirección de Investigación y Desarrollo Científico y al Grupo de Modelos Experimentales

para las Ciencias Zootécnicas por permitir el desarrollo de este proyecto de investigación; al grupo de Neurociencias de la Universidad de Antioquia por la donación de Células Madre Mesenquimales.

Referencias

1. Y. B. Cui et al., "Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation improves cognitive function in Alzheimer's disease mice by decreasing oxidative stress and promoting hippocampal neurogenesis," *Behav. Brain Res.*, vol. 320, 2017, doi: 10.1016/j.bbr.2016.12.021.
2. J. Vasanthan et al., "Role of Human Mesenchymal Stem Cells in Regenerative Therapy," *Cells*, vol. 10, no. 1, 2020, doi: 10.3390/cells10010054.
3. R. Yonemitsu et al., "Fibroblast Growth Factor 2 Enhances Tendon-to-Bone Healing in a Rat Rotator Cuff Repair of Chronic Tears," *Am. J. Sports Med.*, vol. 47, no. 7, 2019, doi: 10.1177/0363546519836959.
4. A. Aghajani Nargesi, L. O Lerman, and A. Eirin, "Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for renal repair," *Curr. Gene Ther.*, vol. 17, no. 1, pp. 29–42, 2017.
5. B. Badyra, M. Sułkowski, O. Milczarek, and M. Majka, "Mesenchymal stem cells as a multimodal treatment for nervous system diseases," *Stem Cells Translational Medicine*, vol. 9, no. 10, 2020, doi: 10.1002/sctm.19-0430.
6. G. Z. Salazar Vargas, V. M. Neyra Chagua, C. R. Pitot Álvarez, A. M. Muñoz Jáuregui, and L. Á. Aguilar Mendoza, "Estudios en neurociencias: aportes para la investigación en cultivo de células madre mesenquimales," *Persona*, no. 21, 2018.
7. J. A. Guadix, J. L. Zugaza, and P. Gálvez-Martín, "Características, aplicaciones y perspectivas de las células madre mesenquimales en terapia celular," *Medicina Clinica*, vol. 148, no. 9, 2017, doi: 10.1016/j.medcli.2016.11.033.
8. Kobolak J, Dinnyes A, Memic A, Khademhosseini A, Mobasher A. Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche. *Methods*. 2016 Apr 15;99:62-8. doi: 10.1016/j.ymeth.2015.09.016. Epub 2015 Sep 15. PMID: 26384580.
9. M. Kosinski et al., "Bone Defect Repair Using a Bone Substitute Supported by Mesenchymal Stem Cells Derived from the Umbilical Cord," *Stem Cells Int.*, vol. 2020, 2020, doi: 10.1155/2020/1321283.
10. A. Can, F. T. Celikkan, and O. Cinar, "Umbilical cord mesenchymal stromal cell transplants: a systemic analysis of clinical trials," *Cyotherapy*, vol. 19, no. 12, pp. 1351–1382, 2017.
11. M. Ziae, J. Zhang, D. V Patel, and C. N. J. McGhee, "Umbilical cord stem cells in the treatment of corneal disease," *Surv. Ophthalmol.*, vol. 62, no. 6, pp. 803–815, 2017.
12. S. Roy, S. Arora, P. Kumari, and M. Ta, "A simple and serum-free protocol for cryopreservation of human umbilical cord as source of Wharton's jelly mesenchymal stem cells," *Cryobiology*, vol. 68, no. 3, 2014, doi: 10.1016/j.cryobiol.2014.03.010.
13. A. C. Schnitzler et al., "Bioprocessing of human mesenchymal stem/stromal cells for therapeutic use: current technologies and challenges," *Biochem. Eng. J.*, vol. 108, pp. 3–13, 2016.
14. S. Ramos García, "Células madre: potencial asombroso, desafiante demanda," 2014.
15. Y. W. Eom et al., "The role of growth factors in maintenance of stemness in bone marrow-derived mesenchymal stem cells," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 445, no. 1, pp. 16–22, 2014.
16. S. H. Hong et al., "Stem cell passage affects directional migration of stem cells in electrotaxis," *Stem Cell Res.*, vol. 38, p. 101475, 2019.
17. C. Rubio-Vargas, J. Alcázar, and L. Francis-Turner, "Influencia del factor de crecimiento fibroblástico 2 en células madre in vitro Estudio de revisión," *Actual. Biológicas*, vol. 41, no. 110, 2019.

18. W. Wei and S. Ji, "Cellular senescence: molecular mechanisms and pathogenicity," *J. Cell. Physiol.*, vol. 233, no. 12, pp. 9121–9135, 2018.
19. V. Turinetto, E. Vitale, and C. Giachino, "Senescence in human mesenchymal stem cells: functional changes and implications in stem cell-based therapy," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 17, no. 7, p. 1164, 2016.
20. L. Chuaire-Noack, C. García-Morcote, and S. R. Ramírez-Clavijo, "Actividad β -galactosidasa asociada con la senescencia en fibroblastos del estroma ovárico in vitro. Revista Ciencias de La Salud, 9," *Rev. Ciencias la Salud*, vol. 9, no. 1, pp. 17–31, 2011.
21. S. Saez-Atienzar and E. Masliah, "Cellular senescence and Alzheimer disease: the egg and the chicken scenario," *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 21, no. 8, 2020, doi: 10.1038/s41583-020-0325-z.
22. K. Endo, N. Fujita, T. Nakagawa, and R. Nishimura, "Effect of fibroblast growth factor-2 and serum on canine mesenchymal stem cell chondrogenesis," *Tissue Eng. Part A*, vol. 25, no. 11–12, pp. 901–910, 2019.
23. Y. Zou, H. J. Tong, M. Li, K. S. Tan, and T. Cao, "Telomere length is regulated by FGF-2 in human embryonic stem cells and affects the life span of its differentiated progenies," *Biogerontology*, vol. 18, no. 1, pp. 69–84, 2017.
24. F. Kottakis, C. Polytarchou, P. Foltopoulou, I. Sanidas, S. C. Kampranis, and P. N. Tsichlis, "FGF-2 Regulates Cell Proliferation, Migration, and Angiogenesis through an NDY1/KDM2B-miR-101-EZH2 Pathway," *Mol. Cell*, vol. 43, no. 2, 2011, doi: 10.1016/j.molcel.2011.06.020.
25. T. Ito, R. Sawada, Y. Fujiwara, Y. Seyama, and T. Tsuchiya, "FGF-2 suppresses cellular senescence of human mesenchymal stem cells by down-regulation of TGF- β 2," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 359, no. 1, pp. 108–114, 2007.
26. L. M. de Souza, "Avaliação da indução de senescência e apoptose pelo tratamento com antraciclinas em fibroblastos humanos deficientes no reparo por excisão de nucleotídeos," 2011.
27. M. Liu et al., "Adipose-derived mesenchymal stem cells from the elderly exhibit decreased migration and differentiation abilities with senescent properties," *Cell Transplant.*, vol. 26, no. 9, pp. 1505–1519, 2017.
28. W. Zhai et al., "Identification of senescent cells in multipotent mesenchymal stromal cell cultures: Current methods and future directions," *Cyotherapy*, vol. 21, no. 8, 2019, doi: 10.1016/j.jcyt.2019.05.001.
29. X. Meng, M. Xue, P. Xu, F. Hu, B. Sun, and Z. Xiao, "MicroRNA profiling analysis revealed different cellular senescence mechanisms in human mesenchymal stem cells derived from different origin," *Genomics*, vol. 109, no. 3–4, 2017, doi: 10.1016/j.ygeno.2017.02.003.
30. J. Franzen et al., "Senescence-associated DNA methylation is stochastically acquired in subpopulations of mesenchymal stem cells," *Aging Cell*, vol. 16, no. 1, 2017, doi: 10.1111/acel.12544.
31. J. A. Arévalo Romero, D. Páez Guerrero, and V. M. Rodríguez Pardo, "Evaluación de características morfológicas e inmunofenotipo de células madre mesenquimales en cultivo obtenidas a partir de sangre de cordón umbilical y médula ósea," *Nova*, vol. 5, no. 8, 2007, doi: 10.22490/24629448.380.
32. I. Fridlyanskaya, L. Alekseenko, and N. Nikolsky, "Senescence as a general cellular response to stress: a mini-review," *Exp. Gerontol.*, vol. 72, pp. 124–128, 2015.
33. R. A. Avelar et al., "A multidimensional systems biology analysis of cellular senescence in aging and disease," *Genome Biol.*, vol. 21, no. 1, 2020, doi: 10.1186/s13059-020-01990-9.
34. D. N. Gala and Z. Fabian, "To Breathe or Not to Breathe: The Role of Oxygen in Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cell Senescence," *Stem Cells Int.*, vol. 2021, p. 8899756, 2021, doi: 10.1155/2021/8899756.

35. J. Li et al., “Down-regulation of fibroblast growth factor 2 (FGF2) contributes to the premature senescence of mouse embryonic fibroblast,” *Med. Sci. Monit.*, vol. 26, 2020, doi: 10.12659/MSM.920520.
36. U. Galderisi et al., “Efficient cultivation of neural stem cells with controlled delivery of FGF-2,” *Stem Cell Res.*, vol. 10, no. 1, 2013, doi: 10.1016/j.scr.2012.09.001.
37. A. Cieślar-Pobuda, J. Yue, H.-C. Lee, M. Skonieczna, and Y.-H. Wei, “ROS and oxidative stress in stem cells.” Hindawi, 2017.
38. R. A. Denu and P. Hematti, “Effects of oxidative stress on mesenchymal stem cell biology,” *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2016, 2016.
39. C. L. Bigarella, R. Liang, and S. Ghaffari, “Stem cells and the impact of ROS signaling,” *Development*, vol. 141, no. 22, pp. 4206–4218, 2014.
40. Y. Liu and Q. Chen, “Senescent Mesenchymal Stem Cells: Disease Mechanism and Treatment Strategy,” *Curr. Mol. Biol. Reports*, vol. 6, no. 4, 2020, doi: 10.1007/s40610-020-00141-0.
41. T. Kamiya, M. Courtney, and M. O. Laukkonen, “Redox-activated signal transduction pathways mediating cellular functions in inflammation, differentiation, degeneration, transformation, and death.” Hindawi, 2016.

Silenciamiento génico en insectos plaga que afectan la industria agrícola usando ARN de interferencia

Gene silencing in pest insects that affect the agricultural industry using interference RNA

Lizeth S. Ossa Toro¹, Dina A. Padilla Jarava², Ligia C. Sánchez Leal³, Luz Stella Fuentes Quintero⁴

Resumen

Los insectos plaga, son especies de organismos vivos que en forma constante se encuentran en poblaciones altas, ocasionando daños económicos en los cultivos. Generalmente, suele tratarse de especies puntuales, por lo general, sólo una o dos, que pueden causar gran afectación económica en el sector de la agricultura. En las últimas 3 décadas se ha venido desarrollando el concepto de un proceso biológico, detectado en eucariotas ampliamente, mediante el que se pueden silenciar genes, a partir de ARN de doble cadena (ARNdc). Esta maquinaria se ha investigado para conocer su funcionamiento y buscar potenciales aplicaciones que podrían tener en el campo de la biotecnología. En varios estudios se encontró que el silenciamiento de genes se debe a las interacciones enzimáticas intracelulares citoplasmáticas con moléculas de ARN pequeñas (ARNSi), que actúan sobre el ARN mensajero (ARNm) intracelular, impidiendo que este se traduzca a proteína. Mediante este mecanismo se busca silenciar genes específicos en insectos plaga, que sean esenciales para que el insecto pueda vivir y de esa manera evitar la proliferación de la plaga. Este artículo recopila los estudios realizados acerca del ARN de interferencia, referidos al mecanismo genético de los insectos, como alternativa para su control.

Palabras claves: silenciamiento genético, control de plagas, insectos plaga, ARNm endógeno, ARNm exógeno, complejo enzimático.

1. Estudiante del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá D.C., Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2091-8487>

2. Estudiante del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá D.C., Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7201-7245>

3 Docente Investigador de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7796-1326>

4 Profesora Asociada. Universidad de Jorge Tadeo Lozano. Bogotá D.C., Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6618-870X>

Correo electrónico de correspondencia: lconsuelosanchez@unicolmayor.edu.co

► <https://doi.org/10.22490/24629448.6189>

Recibido: 17/02/2022
Aceptado: 02/06/2022

Abstract

Pest insects are species of living organisms that are constantly found in high populations, causing economic crops damage. Generally, it tends to be specific species, usually only one or two, which can cause great economic damage in the agricultural sector. In the last 3 decades, the concept of a biological process has been developed, widely detected in eukaryotes, by which genes can be silenced, from double-stranded RNA (dsRNA). This machinery has been investigated to understand its operation and to look for potential applications that it could have in the field of biotechnology. In several studies it was found that gene silencing is due to cytoplasmic intracellular enzymatic interactions with small RNA molecules (siRNA), which act on intracellular messenger RNA (mRNA), preventing it from translating a protein. Through this mechanism, the aim is to silence specific genes in pest insects, which are essential for the insect to live and thus prevent the proliferation of the pest. This article compiles the studies carried out on RNA interference, referring to the genetic mechanism of insects, as an alternative for its control.

Keywords: gene silencing, pest control, pest insects, endogenous mRNA, exogenous mRNA, enzyme complex.

Introducción

En las últimas décadas se ha venido desarrollando el concepto de ARN de interferencia en el ámbito científico; estudios soportados por las ramas de la biología celular y molecular abordan el ARN de interferencia como un mecanismo que promueve el silenciamiento genético, interrumpiendo la expresión de genes específicos en la célula, introduciendo ARN de doble cadena exógeno. Esto ha permitido descubrir la función de varios genes en diferentes seres vivos.

Una de las primeras señales de la presencia de este mecanismo intracelular para supri-

mir genes fue dilucidado por Napoli (1) en el año 1990, donde se evidenció que los genes que expresan la coloración en flores llamadas petunias que fueron modificadas genéticamente se suprimieron, otorgándole este proceso de silenciamiento al gen transgénico de Chalcona sintasa, que fue modificado. La investigación demostró que al introducir en el vegetal una copia adicional del gen que codifica para la enzima que participa en la producción de pigmentos de antocianina denominada chalcona sintasa, las flores que obtuvieron expresaban tonos desde púrpura a blanquecino. Después de esta investigación, en 1992 científicos de la Universidad de Roma le dieron el nombre de “Quelling”

(2) o supresión a la inactivación de la expresión de un gen al introducir una copia adicional de ese mismo gen, en su estudio con el hongo *Neurospora crassa*.

Luego se publicaron estudios realizados con un nemátilo llamado *Caenorhabditis elegans*, en el año 1995 por Guo et al (3) y en 1998 Fire et al (4), con los cuales pudieron dilucidar de una manera más detallada, la manera como ocurre el proceso de silenciamiento genético a través del ARN de interferencia, fundamentado en la degeneración del ARN mensajero (ARNm) intracelular, cuando se integra ARN exógeno de cadena doble (ARNdc), que es homólogo a la secuencia diana, por esta razón el ARNm específico es propenso a silenciarse. Fire et al, demostraron el efecto fenotípico de ARN y observaron que solo se produjeron cambios fenotípicos en el gusano cuando fue integrado el RNA consentido y anti-sentido en forma de ARN de cadena doble, mas no cuando cada ARN era integrado en presentación de cadena sencilla. Así mismo, ellos demostraron que la secuencia del ARN que se buscaba inactivar y la que el RNA bicanalario contenía debían ser complementarias, lo que agregaba especificidad al momento de producirse el silenciamiento y se evidenció que poca cantidad de moléculas se necesitaban para obtener silenciamiento, que era el objetivo.

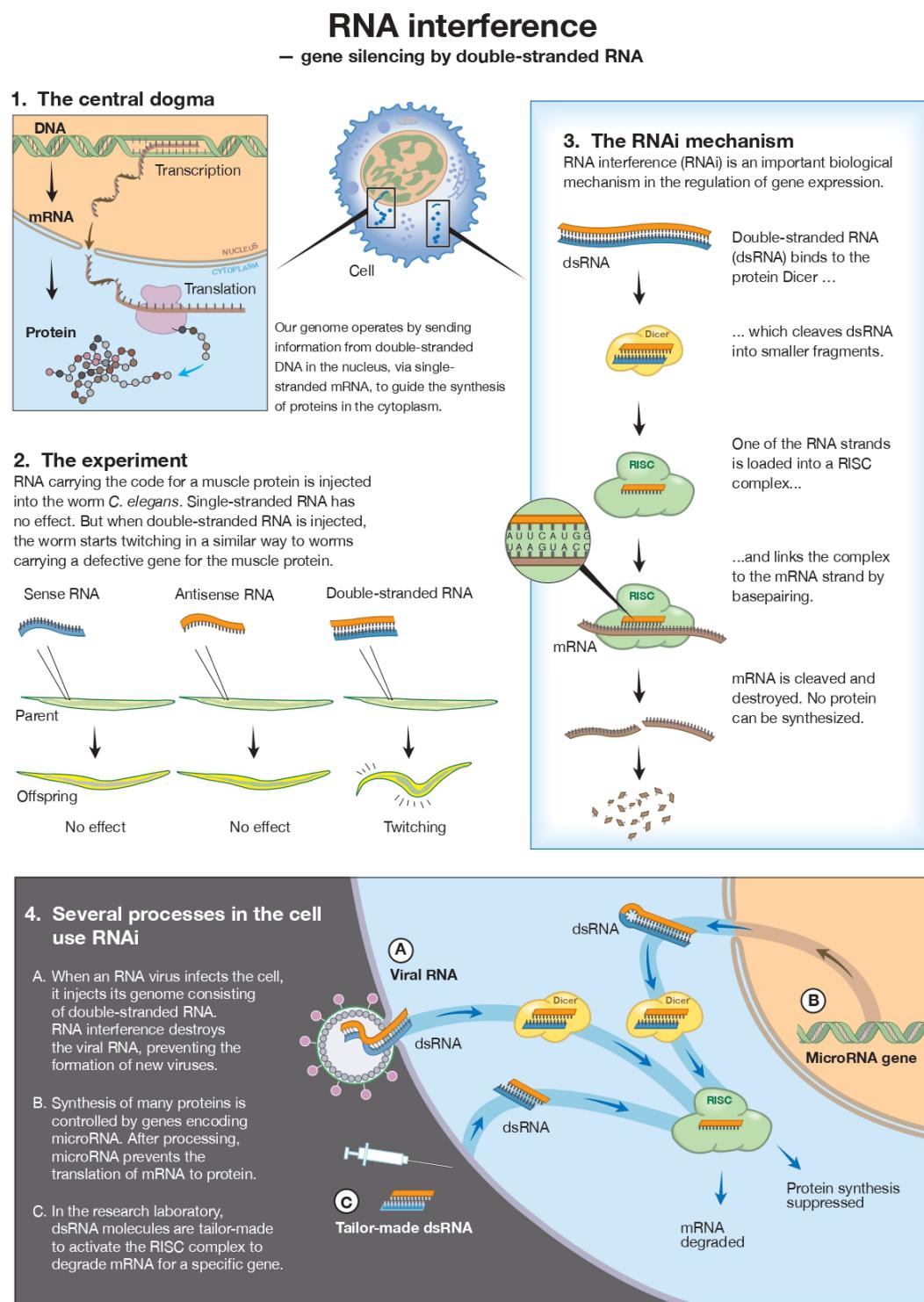
En el año 1999, Hamilton et al (5) realizaron un estudio que describe el silenciamiento génico postranscripcional (PTGS) como un

mecanismo de defensa específico de la secuencia de nucleótidos que puede dirigirse a los ARNm tanto celulares como virales. Para el año 2001, se publicó un artículo escrito por Bernstein et al (6) en donde se analiza que el ARN de interferencia en plantas puede ocurrir tanto a nivel transcripcional como post transcripcional; sin embargo, en animales, sólo lograron identificar ARNi posttranscripcional. El ARNi se caracteriza en animales y plantas por la presencia de ARN de aproximadamente 22 nucleótidos de largo que son homólogos al gen diana que está siendo silenciado. Dichas secuencias de 22 nucleótidos son usadas como secuencias líder que ordenan e instruyen a enzimas nucleasas que componen el complejo RISC, para destruir los ARN mensajeros específicos del gen que se busca suprimir. Por ende, el ARNi se considera como un mecanismo que ha revolucionado la biología celular.

Caracterizando el RNA de interferencia

El ARNi fue caracterizado en el año 1998, cuando Fire y Mello demostraron que, si se introducía una secuencia de RNA de doble hebra en las células del gusano *Caenorhabditis elegans*, este RNA le ocasiona interferencia al RNA mensajero, suprimiendo la traducción de proteínas específicas. Este ARN bicanalario exógeno al ser integrado, se degrada en el citoplasma en pequeñas hebras de ARN de 20 a 25 nucleótidos, a lo que se le denomina ARN de interferencia.

Figura 1. Esquema donde se define el descubrimiento del silenciamiento génico inducido por ARNi cuando se concedió el premio Nobel a Fire-Mello (7).



Fuente: The Nobel Committee for Physiology or Medicine. Illustration: Annika Röhl
<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2006/press-release/>

En el estudio que se realizó *in vitro* utilizando extractos de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* (8), se describió el mecanismo del ARNi donde el ARN de doble cadena (ARNdc) por lo general más de 200pb, que es introducido en la célula, promueve la destrucción de la secuencia de intercambio de ARNm con el ARNdc. A este fenómeno se le denomina (ARNi). El ARNdc se convierte por escisión endonucleolítica que es dependiente de ATP, a través de un complejo enzimático, en pequeños ARN interferentes (ARNSi) de 21 a 23 nucleótidos, que en las regiones complementarias hibridan el ARNm intracelular imposibilitando que este codifique para proteínas específicas, hay otros mecanismos distintos por los cuales esto puede ser desarrollado. En el artículo que escribe Rana T. (9), define el RNAi como moléculas de ARN de cadena doble que consta de 20 nucleótidos aproximadamente cuyas cadenas muestran una complementariedad exacta y estas hebras son provenientes de unas escisiones enzimáticas citoplasmáticas. A continuación, procedemos a describir este complejo enzimático:

Componentes del silenciamiento génico

Tipos de ARNi

La molécula del ARN de interferencia, tienen una composición entre los 20 y 25 nucleótidos, siendo este una molécula pequeña que se produce por la segmentación de hebras más largas. Los ARNi pueden ser clasificados en tres grupos grandes:

1. Los ARNSi asociados a Piwi (piRNAs por sus siglas en inglés)

Estos pequeños ARNSi se originan desde unas hebras precursoras más largas de una sola cadena, en un proceso independiente de las enzimas Drosha y Dicer. Las proteínas piwi constituyen una subclase de la línea germinal de la familia argonaute, con el fin de generar complejos silenciadores que son inducidos por piRNAs. Los cuales ayudan a oprimir los transposones a través de mecanismos transcripcionales o postranscripcionales y así se mantiene la integridad del genoma de la línea germinal (10). Adicionalmente a que los piRNAs tienen funciones de silenciamiento génico, también contribuyen a la regulación de genes celulares. Este grupo de ARNSi integrantes de la supresión de genes ha sido identificado hace poco y por lo tanto no se tiene mucha información, de todas formas su estudio está permitiendo acoplar nuevos puntos de vista para lograr la comprensión de los mecanismos que maneja el ARNi(11).

2. siRNA (ARN de interferencia pequeño)

Estas moléculas están constituidas por dos cadenas de ARN, con una longitud aproximada de 20 nucleótidos, cuyas hebras presentan complementariedad. estas moléculas se forman debido a la enzima Dicer la cual corta el RNA bicatenario exógeno de cadenas largas en diferentes siRNA (12). Estos productos fragmentados se incorporan después en el complejo silenciador inducido por

ARN (RISC), el cual utiliza la hebra anti sentido como una guía para poder identificar el ARNm que es complementario. Después el complejo RISC cataliza los ARNm los cuales son degradados por la maquinaria celular, y así produciendo el silenciamiento génico. Estos ARNs de interferencia pequeños son introducidos en las células, lo cual provoca el silenciamiento de diferentes genes, suprimiendo así diferentes funciones en la célula (9).

3. RNAmi (microARN)

Los microARN se clasifican como ARN monocatenario de aproximadamente 22 nucleótidos, los cuales se pueden encontrar en diversidad de organismos, desde gusanos, humanos y plantas (13). Estos se originan en el núcleo de las células y son sintetizados como pioneros en el núcleo; y se les denomina microARN primarios. Despues del desarrollo nuclear, estos salen al citoplasma mediante los poros nucleares. Los microARN ya desarrollados se llaman inmaduros y estos necesitan un procesamiento posterior para formar la parte activa o madura (14).

Cuando los microARN se encuentran en el citosol, son escindidos con la enzima Dicer, que es la misma que hace los cortes para los ARNm en el fenómeno de ARNi. El proceso es parecido al de ARNsi, la cadena anti sentido se adhiere al complejo parecido a RISC, esto depende del grado de complementariedad con el ARNm, o puede inducir

su degeneración o no permite que se dé la traducción (15).

Otros componentes en esta reacción son:

1. Enzima Dicer.

El Silenciamiento génico se da después que la enzima Dicer fracciona el ARN de doble cadena (dsRNA) en pequeños ARN interferentes (6) 16 . Dicer también se encarga de procesar ARN pequeños endógenos, también conocidos como microRNA (16). Esta pertenece a la familia de las nucleasas ARNsi, estas enzimas se conservan en diferentes especies como son moscas, gusanos, plantas, hongos y mamíferos. La enzima Dicer tiene 4 dominios: unión a ARNdc, motivos dobles de RNAsa III, helicasa, y un dominio de actividad endonucleasa(7) .

2. RISC.

Es el complejo ribonucleoproteico siglas en inglés de RNA-induced silencing complex, la cual contiene diversos factores celulares; Gracias a esta se reconoce y se degradan los mRNA diana. Lo primero que hace es desenrollar y desnaturaliza los siRNA, esto permite que la hebra anti- sentido guíe el complejo RISC hacia el ARN mensajero que tiene secuencia homóloga, mientras tanto es degradada la cadena con sentido. Esto se da debido al acoplamiento de las bases nitrogenadas. El complejo RISC presenta actividad de las endonucleasas, esto debido a que al igual que la enzima Dicer contiene algunas proteínas miembros de la

familia Argonaute (7).

Hoy en día las investigaciones realizadas, muestran que el uso del ARNi que se activa con el ARNdc, es una metodología antigua, que precede de la variación evolutiva de las plantas y los gusanos. Así mismo se ha inferido que funciona de manera natural en el silenciamiento de virus y elementos genéticos móviles que producen ARNdc intermediarios, que son un tipo de ARN no producidos a nivel celular usualmente (16).

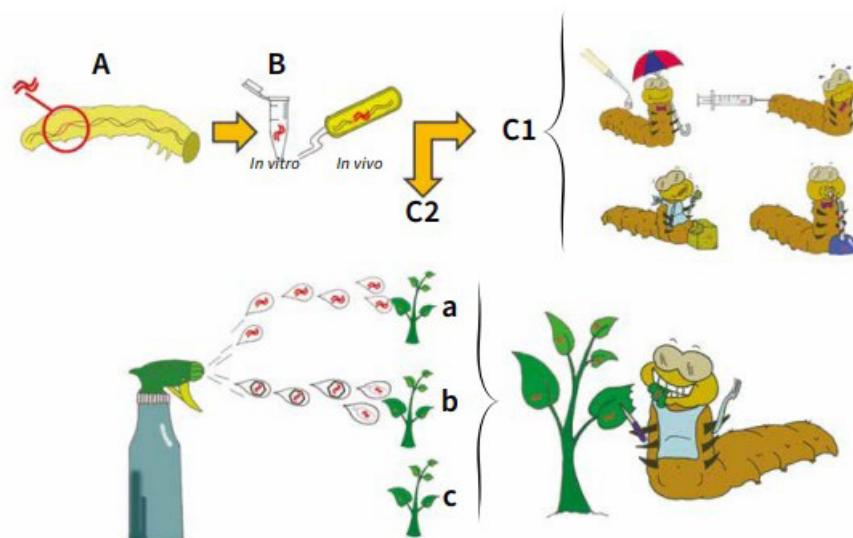
Utilizando el ARNi se ha logrado silenciar genes que se encuentra en células de cultivo y es posible silenciar el gen diana en un organismo con eficiencia. El ARNi se puede utilizar para silenciar RNAm los cuales codifican proteínas

que están implicadas en la ruta endocítica para el desarrollo de moléculas. A través del ARN interferente es posible separar la parte del mecanismo endocítico necesario para dar paso a la morfogénesis, como también se puede aplicar este proceso en el biocontrol de plagas en la agricultura (17). El silenciamiento, se presentaba debido a que el gen introducido como el homólogo endógeno son interrumpidos, y se llamó a este proceso (18) co-supresión génica o silenciamiento génico post transcriptional.

En poco tiempo, la presencia del RNAi se registró de una forma veloz, en muchas otras especies, como la planaria, hidra, el pez cebra, mosca del vinagre (19), tripanosomas y plantas.

El ARNi tiene al menos tres propósitos

Figura 2. Esquema de la estrategia de control de insectos plaga mediante ARNi. A. Selección del gen blanco; B. Producción de moléculas desencadenantes; C. Vías de aplicación; C1. Métodos utilizados en laboratorio: aplicación tópica e inyectada y aplicación oral mediante dietas artificiales y método de la gota; C2. Estrategias de liberación en campo; C2a. Aplicación de moléculas desencadenantes formuladas; C2b. Aplicación a través de vectores (bacterias y virus); C2c. Uso de plantas hospederas transgénicas (20).



Fuente: Correal et al.,(2018). Nuevas estrategias para el control biológico en: Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros: Aplicaciones y perspectivas. Vol 2. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria -AGROSAVIA. <https://doi.org/10.21930/agrosavia.investigation.7402544>

esenciales en los organismos eucariotas, la protección de agentes virales, la regulación génica específica y defender el organismo de elementos genéticos transponibles o transposones, no obstante, no solo estas funciones están asociadas al ARNi. El descubrimiento del mecanismo usado por el RNAi por Fire y Mello les otorgó la concesión del premio Nobel de medicina, a los dos investigadores de nacionalidad estadounidense para el año 2006 (21).

Uso del ARNi para control en insectos plaga

Se había descrito qué Fire et al, demostraron que el ARNi podía degradar ARNm y bloquear la expresión de genes de insectos, como se investigó en el experimento con *C. elegans* (4). La manera de activar el ARNi en *C. elegans* se promueve sumergiendo el nematodo directamente en soluciones que contienen ARNdc, alimentándolo con bacterias que expresan el ARNdc o en la cavidad del cuerpo del nematodo se inyecta ARNdc. En alguna de estas situaciones, el efecto ARNi actúa de manera sistémica y transitoria, esto demuestra que el ARNi tiene actividad de corta duración y ocurre en el animal completo, así mismo el ARNdc que toma la vía RNAi es amplificado por la enzima ARN polimerasa que es dependiente de ARN derivada del huésped (RdRp). En insectos, el desarrollo del proceso cambia, ya que parecen carecer de un RdRp endógeno. En ausencia de RdRp, es probable

que los ARNdc en los insectos no se amplifiquen y, para que sean efectivos, se deben enviar directamente a las células y tejidos donde se va a producir la supresión de la expresión del gen diana (22) .

Debido a que el ARNi tiene un gran potencial para silenciar genes específicos, la biotecnología nos permite usarlo en el campo del control de plagas en la agricultura (23) , en el caso de Colombia, el café es uno de los productos más importantes, ya que alrededor de 500.000 familias tienen cultivos cafeteros en 869.000 hectáreas aproximadamente y sus ingresos provienen de la venta de la semilla, se busca promover el manejo integrado de insectos plaga en los cafetales, para su control y evitar la propagación de enfermedades de una manera menos nociva para el ambiente, que marque una diferencia al uso de pesticidas (24). Mantener las características sanitarias del cultivo, es uno de los puntos clave en los cafetales, para salvaguardar la productividad, la excelente calidad y asegurar sus ingresos. En este tipo de cultivos, se encuentra la Broca del café, o barrenador del café, *Hypothenemus hampei Ferrari*, apareció en Colombia un insecto en el año 1988, el control de este insecto se ha mostrado como un gran reto ya que tiene un hábito de integrarse en los frutos de café y permanecer oculto, ya allí logra alimentarse y reproducirse causando daños que influyen en varios factores como: el peso de la semilla, la disminución de la calidad del café y por último la pérdida total del fruto (25).

El uso de insecticidas no es una solución viable para la erradicación de este insecto, por el impacto ambiental que tiene y por qué cuando el insecto se encuentra dentro de la semilla del café, ya ningún insecticida tiene efectividad sobre él, así que el ARNi es un mecanismo fundamental para silenciar genes post transcripcionales que permitan el control de este insecto.

El insecto debe ser capaz de integrar de manera autónoma las moléculas de ARNdc para desencadenar el mecanismo de ARNi y esto es posible realizarlo por medio de alguno de estos mecanismos:

- 1) A través de la proteína SID-I, que es una proteína transmembrana que se caracterizó en *Caenorhabditis elegans* Maupas, en el año 1990 (Rhabditida, Rhabditidae), se ha evidenciado que esta proteína interviene en el proceso de captura de ARNdc citoplasmático.
- 2) Existe una vía donde la enzima ATPasa H⁺ vacuolar tiene un papel importante para el transporte de solutos intermembranales (26).

Baum et al publicaron un estudio donde se evidencia la importancia del ARNi como uso para el control de insectos, como respuesta a la protección de los cultivos y reportaron en ese estudio una disminución en el perjuicio causado por el gusano de la raíz del maíz *Diabrotica virgifera* (Coleop-

tera, Chrysomelidae) en plantas de maíz que a nivel genómico fueron modificadas con ARNdc del gen ATPasa H+(27). Por otra parte otros estudios (28), que implican el suministro de ARNdc por vía ingestión oral, demuestran que hay una vasta gama de organismos diana de diferentes familias de insectos, y encontraron multiples genes que son candidatos para demostrar el amplio espectro de aplicación integrando ARNdc y el potencial que tiene la técnica que usa ARNi (29). Durante los últimos años, Bayer ha desarrollado y aprobado el evento de transporte de maíz denominado SmartStax PRO MON 87411 celebrado en Canadá en 2016 y los Estados Unidos de América en el 2017 que promueve el control de *Diabrotica virgifera virgifera* este se ha considerado un acontecimiento significativo en el uso de la biotecnología RNAi en el campo agrícola (30). Esta tecnología ahora está disponible para el uso en la producción agrícola.

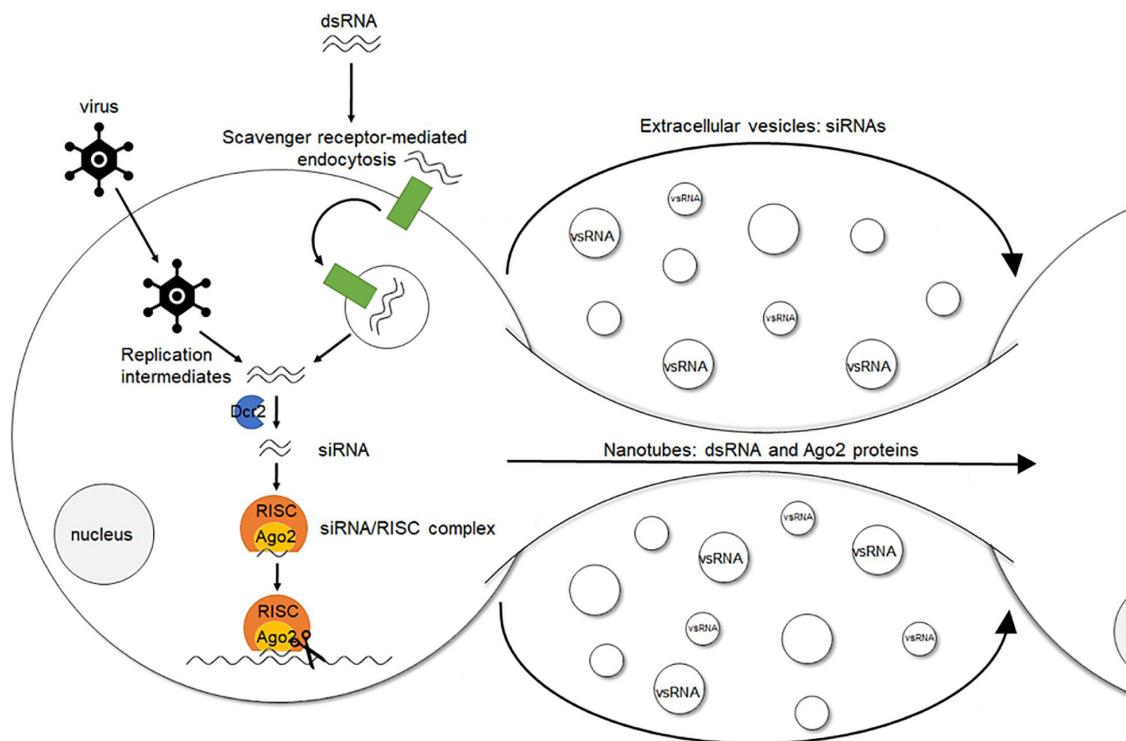
Algo particular en los insectos, es que ellos son capaces de generar una respuesta de ARNi completa o sistémica frente a la introducción de ARNdc; la absorción celular de dsRNA en los insectos, se efectúa a través de endocitosis mediada por el receptor de la célula captadora al igual que en células cultivadas, como *in vivo* (31). Adicional a esto, se conoce que la captación de ARNdc desnudo depende de su longitud y ocurre eficientemente para moléculas de ARNdc largas de alrededor de 200–500 pares de bases (pb) e incluso de hasta alrededor de

1000 pb. Pero para construcciones más cortas como los ARNsí, esta eficacia disminuye (32). En este estudio, se demostró que las lipoforinas pueden adherirse a los fragmentos de ARNdc en la hemolinfa del insecto, lo que permite inferir que estas proteínas tienen un rol en la protección, el transporte o las dos, en todo el cuerpo del insecto (33).

Adicionalmente, se han informado dos hallazgos principales para *Drosophila melanogaster*. Primero, la infección viral de las

células de *Drosophila* cultivadas aumentó la formación de estructuras similares a nanotubos a través de las cuales puede ocurrir el transporte a corta distancia de los componentes ARNdc y RISC (34). En segundo lugar, se ha demostrado que las moscas usan vesículas similares a exosomas derivadas de hemocitos para diseminarse sistémicamente una señal de ARNsí antiviral en la hemolinfa (35).

Figura 3. Modelo simplificado de ARNi (antiviral) en insectos (36)



Fuente: Vogel et al., Front. Physiol., (2019) <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01912>

Al integrar ARNdc en el insecto, encaminado a bloquear la transcripción de un gen endógeno específico en el organismo de la plaga objetivo, se puede eliminar la expresión de este gen a nivel postranscripcional.

Teniendo en cuenta esta información, realizando un proceso de selección de un gen objetivo esencial para la sobrevivencia de la plaga o que le permita generar patogenicidad, este mecanismo puede conducir a la

mortalidad de insectos. La condición puntual de especificidad que tiene la secuencia y la posibilidad de apuntar a cualquier gen que afecte la sobrevivencia de la plaga y que sea no conservado, evocan al ARNi como un candidato ideal, para ser aplicado como insecticida específico de la especie.

Wuriyanghan et al en el año 2011 realizaron un experimento administrando ARN de doble cadena, y siRNAs de forma oral, en el psílido de la papa/tomate Bactericerca cockerelli, quien es un vector para la bacteria *Candidatus liberibacter* sp, la cual se asocia con la enfermedad del chip de cebra de la papa, y *Diaphorina citri* es el vector de *Ca. Liberibacter asiaticus*, asociado con el reverdecimiento de los cítricos o denominado la enfermedad de Huanglongbing (HBL), que en el momento es una de las mayores amenazas en la industria de los cítricos. La semejanza biológica entre el chip de cebra con la HLB, sus agentes causal de la enfermedad y sus vectores psílicos sugieren que el éxito con una especie de insecto, *B. cockerelli*, tendrá una aplicación potencial en la otra, *D. citri*. El suministro de RNA de interferencia ocasiona un porcentaje de muerte alto en los insectos (37).

En el año 2013 Xiong et al, publicaron un estudio donde se silenció el gen de la muda HaHR3, del gusano de la cápsula del algodón (*Helicoverpa armigera*) cuando *H. armigera* se alimentaba de *E. coli* o plantas transgénicas las cuales contenían el RNA de doble

cadena, se observó una reducción significativa de la expresión del gen HaHR3, lo que llevó a la larva a tener una mala formación y un alto porcentaje de muerte (38). En la revista Science en el 2008, Wu KM et al realizaron una investigación donde se utilizaban plantas transgénicas de algodón con toxina insecticidas de *Bacillus thuringiensis* (Bt), la cual ayuda a combatir y resistir la plaga del gusano *H. armigera*, y también evita la presencia en otros cultivos (39). Así mismo se podría usar ANRi en conjunto con la toxina tipo Cry de *Bacillus thuringiensis* (Bt), Lo que podría ser un gran potencial para combatir los insectos que afectan cada día la economía agrícola, se puede suponer que la resistencia de algunas plagas a la toxina Cry de *B. thuringiensis* (Bt), podría disminuir con el uso de RNA de interferencia indicados directamente con los genes que están involucrados en dicha resistencia (40).

El uso de plantas transgénicas con ARN de interferencia sigue siendo una fuente de ayuda para combatir diversidad de plagas, en el estudio realizado por Kumar et al. (2012), Utilizaron la planta *N. attenuata* las cuales tenían un fragmento del gen CYP6B46 de una forma invertida para producir ARNdC, el gen diana está en el intestino de *Maduca sexta*, después que estos se alimentarán de dicha planta, se observó una reducción significativamente la expresión del gen (41). Una evidencia del silenciamiento de genes mediante el uso de RNAi en insectos plaga y su uso exitoso para detener la expresión

de genes Diana vitales, abrió una puerta al desarrollo de una variedad de enfoques novedosos y amigables con el medioambiente (42). Realizaron experimentos donde usaban RNA de interferencia para controlar la polilla del dorso de diamante, *Plutella xylostella*, donde este iba actuar directamente al gen diana acetilcolinesterasa AchE2, la tasa de mortalidad fue bastante elevada cuando estas se alimentaron de la planta *Brassica* spp (43).

Hasta el momento solo hemos revisado el enfoque transformador para entregar ARNdc, que implica la utilidad de plantas transgénicas, usándolas como herramienta para el biocontrol de insectos plagas. Esta es una forma atractiva de inducir el silenciamiento génico en una plaga específica (27), sin embargo, no es práctico para todos los organismos o cultivos de destino. Adicional a esto, una de las principales desventajas de las plantas y semillas transgénicas es que ellas llevan un proceso de aprobación regulatoria por parte de las entidades responsables, que requiere de años de estudio y es costosa (44), teniendo en cuenta esto los estudios actuales están enfocados en encontrar técnicas que impliquen una disminución constante en el costo de producción de ARNdc, para así mismo obtener mayor atracción de las empresas hacia el desarrollo de técnicas mejoradas de producción de ARNdc (45).

El silenciamiento génico mediado por ARNi se puede inducir de dos maneras en un or-

ganismo, liberando moléculas de ARNdc o administrando directamente ARN pequeños (ARNs). En el momento se han encontrado dos tipos principales de ARN pequeños que actúan sobre la vía del ARNi: Los microARN (miARN) y los ARN de pequeña interferencia (ARNip). Los ARNmi surgen de forma intracelular e intervienen en la regulación de la expresión de los genes, mientras que los ARNsi pueden ser de origen exógeno, pueden provenir de un virus o suministro artificial (46). O de origen endógeno de transposones (47).

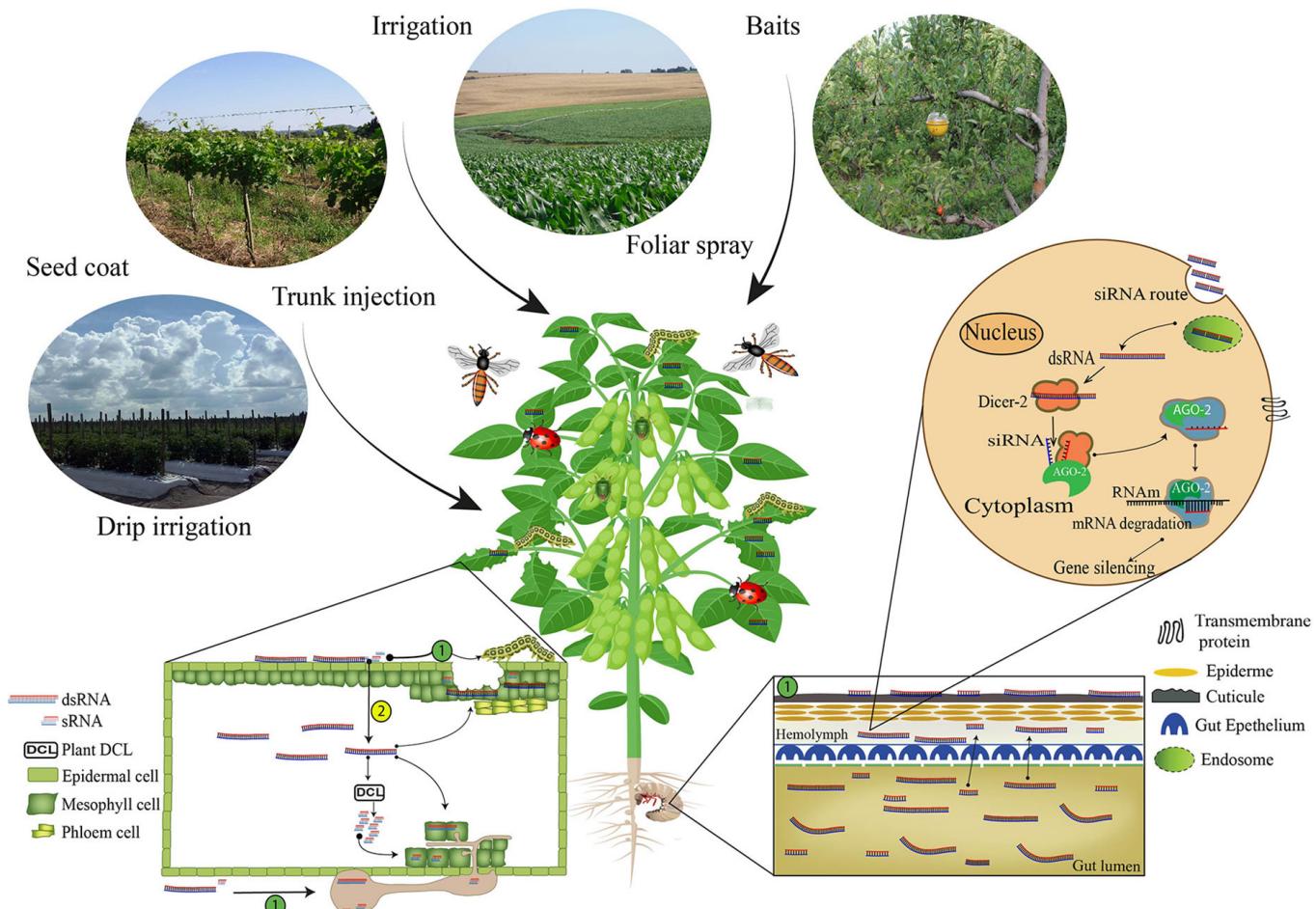
En la mayoría de los casos, los insectos captan ARNdc de más de 50 pb, pero no captan ARNs (48), aunque algunos estudios han demostrado que el ARNs puede desencadenar el silenciamiento de genes (49). Sin embargo, otros organismos como los hongos y las plantas absorben tanto ARNdc como ARNs (50), lo que sugiere que estos organismos tienen un mecanismo de absorción diferente (51).

Cuando las moléculas de ARN son agregadas al campo de acción (puede ser a través de plantas transgénicas, pulverización foliar o inyección en el tronco), deben buscar una ruta de ingreso a nivel celular en el organismo objetivo para desencadenar el silenciamiento génico. Existen dos procesos por los cuales puede ocurrir: (a) absorción directa o (b) indirecta. La absorción directa ocurre en el momento en que las moléculas de ARNdc son absorbidas por medio del contacto tópico o cuando los insectos se alimentan

de las plantas o tejidos vegetales. En sentido contrario, la captación indirecta de moléculas de ARN es un proceso que implica

ingresar primero en el sistema vascular de la planta y después ser captadas por el insecto/patógeno (46).

Figura 4. Opciones de entrega de ARNi no transformadoras para la activación del silenciamiento génico endógeno. (52)



Fuente: Cagliari et al., Front. Plant Sci., (2019) <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.0131>

Los costos de producción de ARNdc disminuyeron de una manera muy marcada en los últimos años, de 12,500 USD por gramo en el año 2008 a 60 USD por gramo (cifras calculadas aproximadamente) en 2018 (52), esto incrementa la expectativa de precios para los productores agrícolas que son el mercado objetivo, esperando que estos bajen significa-

tivamente en los próximos años. La amplia producción sistemática de ARNdc, se puede dar de manera *in vivo* o *in vitro*, y esto permite una elevada producción de ARNdc con la disminución de costes. Se trata de estrategias basadas en la hibridación de dos ARN monocatenarios (ssARNs), que son sintetizados enzimáticamente, que pueden realizarse

in vitro o in vivo (utilizando células bacterianas deficientes en la enzima RNasa III que degrada los ARNdc) (50). Aunque un sistema in vivo permite la producción masiva de ARNdc comparada con la síntesis in vitro, aún reporta resultados con costos elevados, una purificación dura y una alta demanda de mano de obra (20) y adicional a esto sigue siendo ARNdc desnudo que en condiciones de práctica, presenta una vida media más corta. Por eso mismo, la entrega de ARNdc es una opción eficaz para aumentar la estabilidad y rendimiento del silenciamiento génico en especies recalcitrantes en *Lepidóptera* y *Hemíptera*, permitiendo que las plantas estén protegidas por más tiempo.

Conclusiones

Aunque el ARN de interferencia es un hallazgo científico que cuenta con pocas décadas, ha tenido muchos avances en los últimos años y tiene un gran potencial para ser utilizado en el campo biotecnológico y en otros campos. En la agricultura, puede usarse como control de insectos plaga que acechan los cultivos y representa una técnica amigable con el medio ambiente, siendo un reemplazo a los pesticidas y otros químicos utilizados a diario para el control de plagas, que no siempre son eficaces y dañan el medio ambiente.

Aunque el uso de insecticidas es un procedimiento frecuente, del 18 al 20% de la cosecha que se cultiva es pérdida, debido a

que los insectos plaga la infestan; uno de los problemas es la resistencia que generan los insectos ante los insecticidas, situación que hace inminente buscar una solución más eficaz para mejorar las estrategias de protección vegetal.

Referencias

1. Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a Chimeric Chalcone Synthase Gene into Petunia Results in Reversible Co-Suppression of Homologous Genes in trans. Plant Cell [Internet]. 1990 [cited 2020 Apr 25];2(4):279–89. Available from: <http://www.plantcell.org/content/2/4/279>
2. Romano N, Macino G. Quelling: transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences. Mol Microbiol [Internet]. 1992 [cited 2020 Apr 25];6(22):3343–53. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1484489>
3. Guo S, Kemphues KJ. par-1, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed. Cell [Internet]. 1995 May [cited 2020 Apr 25];81(4):611–20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7758115>
4. Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. Nature [Internet]. 1998 Feb [cited 2020 Apr 25];391(6669):806–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9486653/>
5. Hamilton AJ, Baulcombe DC. A Species of Small Antisense RNA in Posttranscriptional Gene Silencing in Plants. Science (80-) [Internet]. 1999 Oct 29 [cited 2020 Apr 25];286(5441):950 LP – 952. Available from: <http://science.sciencemag.org/content/286/5441/950.abstract>

6. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* [Internet]. 2001 Jan [cited 2020 Apr 25];409(6818):363–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11201747/>
7. Barrón C. Implicaciones Fisiopatológicas De Los Rna De Interferencia [Internet]. Universidad Complutense. 2020-04-29; 2017. Available from: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/55569/1/CARMEN%20BARRON%20GARCIA.pdf>
8. Haley B, Tang G, Zamore PD. In vitro analysis of RNA interference in *Drosophila melanogaster*. *Methods* [Internet]. 2003 [cited 2020 Apr 29];30(4):330–6. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1046202303000525>
9. Rana TM. Illuminating the silence: understanding the structure and function of small RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2007 Jan [cited 2020 Apr 29];8(1):23–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17183358/>
10. Iwasaki YW, Siomi MC, Siomi H. PIWI-Interacting RNA: Its Biogenesis and Functions. *Annu Rev Biochem* [Internet]. 2015 Jun 2 [cited 2020 Apr 29];84(1):405–33. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-034258>
11. Yigit E, Batista PJ, Bei Y, Pang KM, Chen C-CG, Tolia NH, et al. Analysis of the *C. elegans* Argonaute Family Reveals that Distinct Argonautes Act Sequentially during RNAi. *Cell* [Internet]. 2006 Nov 17 [cited 2020 Apr 29];127(4):747–57. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.033>
12. & Wolfman LSBA. Small interfering RNA induced knockdown of green fluorescent protein using synthetic RNA molecules. *J Chem Inf Model* [Internet]. 2013;53(9):1689–99. Available from: <http://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol Apl/2007/24/1/BA002401OL049-052.pdf>
13. Doench JG, Sharp PA. Specificity of microRNA target selection in translational repression. *Genes Dev* [Internet]. 2004/03/10. 2004 Mar 1 [cited 2020 Apr 29];18(5):504–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15014042/>
14. Guerra JJL, Arjona LG. ARN interferente: una herramienta y un novedoso mecanismo de regulación génica. *Científico Estud las Ciencias Médicas Cuba* [Internet]. 2008 [cited 2020 Apr 29]; Available from: <http://www.16deabril.sld.cu/rev/235/04.html>
15. Bernstein E, Kim SY, Carmell MA, Murchison EP, Alcorn H, Li MZ, et al. Dicer is essential for mouse development. *Nat Genet* [Internet]. 2003 [cited 2020 Apr 29];35(3):215–7. Available from: <https://doi.org/10.1038/ng1253>
16. Novina CD, Sharp PA. The RNAi revolution. [Internet]. Vol. 430, *Nature*. England; 2004 [cited 2020 Apr 29]. p. 161–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15241403/>
17. Sijen T, Vijn I, Rebocho A, van Blokland R, Roelofs D, Mol JNM, et al. Transcriptional and posttranscriptional gene silencing are mechanistically related. *Curr Biol* [Internet]. 2001 [cited 2020 Apr 29];11(6):436–40. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982201001166>
18. Kole R, Krainer AR, Altman S. RNA therapeutics: beyond RNA interference and antisense oligonucleotides. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2012 Jan [cited 2020 Apr 30];11(2):125–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22262036/>
19. Ahmed I, Ahmed Tipu S, Ishtiaq S. Malignant mesothelioma. *Pakistan J Med Sci* [Internet]. 2013 Nov [cited 2020 Apr 30];29(6):1433–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24550969>
20. Cotes AM. Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros [Internet]. Vol. 1. 2018 [cited 2020 Apr 30]. Available from: <http://editorial.agrosavia.co/index.php/publicaciones/catalog/download/23/14/313-1?inline=1>
21. Sen GL, Blau HM. A brief history of RNAi: the silence of the genes. *FASEB J* [Internet]. 2006 Jul 1 [cited 2020 Apr 30];20(9):1293–9. Available from: <https://doi.org/10.1096/fj.06-6014rev>
22. Röther S, Meister G. Small RNAs derived from longer non-coding RNAs. *Biochimie* [Internet]. 2011 Nov [cited 2020 Apr 30];93(11):1905–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21843590/>

23. Borovsky D. Insect peptide hormones and RNA-Mediated interference (RNAi): Promising technologies for future plant protection. *Phytoparasitica* [Internet]. 2005 Mar 1 [cited 2020 Apr 30];33:109–12. Available from: https://www.researchgate.net/publication/298552487_Insect_peptide_hormones_and_RNA-Mediated_interference_RNAi_Promising_technologies_for_future_plant_protection
24. Chaves B, Riley J. Determination of factors influencing integrated pest management adoption in coffee berry borer in Colombian farms. *Agric Ecosyst Environ* [Internet]. 2001 [cited 2020 Apr 30];87(2):159–77. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167880901002766>
25. Baker, P. La broca del café en Colombia; informe final del proyecto MIP para el café DFID-Cenicafé-CABI BioScience. Colomb Entomol [Internet]. 1999 [cited 2020 May 1];32(2):101–16. Available from: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:YKIKNgR49LcJ:www.scielo.org.co/pdf/rcen/v32n2/v32n2a01.pdf+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=co> 25
26. Huvenne H, Smagghe G. Mechanisms of dsRNA uptake in insects and potential of RNAi for pest control: a review. *J Insect Physiol* [Internet]. 2010 Mar [cited 2020 May 1];56(3):227–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19837076/#:-text=Abstract, and digestion in its midgut>.
27. Baum JA, Bogaert T, Clinton W, Heck GR, Feldmann P, Ilagan O, et al. Control of coleopteran insect pests through RNA interference. *Nat Biotechnol* [Internet]. 2007 [cited 2020 May 1];25(11):1322–6. Available from: <https://doi.org/10.1038/nbt1359>
28. Bautista MAM, Miyata T, Miura K, Tanaka T. RNA interference-mediated knockdown of a cytochrome P450, CYP6BG1, from the diamondback moth, *Plutella xylostella*, reduces larval resistance to permethrin. *Insect Biochem Mol Biol* [Internet]. 2009 [cited 2020 May 1];39(1):38–46. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0965174808001732>
29. Aguilera G. C, Padilla H. BE, Flórez R. CP, Rubio G. JD, Acuña Z. JR. ARN interferente: Potenciales usos en genómica funcional y control genético de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytinae) [Internet]. Vol. 37, Revista Colombiana de Entomología. scielo; 2011 [cited 2020 May 1]. p. 167–72. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882011000200001&lng=es
30. Head GP, Carroll MW, Evans SP, Rule DM, Willse AR, Clark TL, et al. Evaluation of SmartStax and SmartStax PRO maize against western corn rootworm and northern corn rootworm: efficacy and resistance management. *Pest Manag Sci* [Internet]. 2017 Sep [cited 2020 Aug 24];73(9):1883–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28195683/>
31. Turner CT, Davy MW, MacDiarmid RM, Plummer KM, Birch NP, Newcomb RD. RNA interference in the light brown apple moth, *Epiphyas postvittana* (Walker) induced by double-stranded RNA feeding. *Insect Mol Biol* [Internet]. 2006 Jun [cited 2020 May 1];15(3):383–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16756557/>
32. Saleh M-C, van Rij RP, Hekele A, Gillis A, Foley E, O'Farrell PH, et al. The endocytic pathway mediates cell entry of dsRNA to induce RNAi silencing. *Nat Cell Biol* [Internet]. 2006 [cited 2020 May 1];8(8):793–802. Available from: <https://doi.org/10.1038/ncb1439>
33. Wynant N, Santos D, Vanden Broeck J. Biological mechanisms determining the success of RNA interference in insects. *Int Rev Cell Mol Biol* [Internet]. 2014 [cited 2020 May 1];312:139–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25262241/>
34. Karlikow M, Goic B, Mongelli V, Salles A, Schmitt C, Bonne I, et al. Drosophila cells use nanotube-like structures to transfer dsRNA and RNAi machinery between cells. *Sci Rep* [Internet]. 2016 [cited 2020 May 1];6(June):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep27085>
35. Tassetto M, Kunitomi M, Andino R. Circulating Immune Cells Mediate a Systemic RNAi-Based Adaptive Antiviral Response in Drosophila. *Cell* [Internet]. 2017 Apr [cited 2020 May 1];169(2):314-325.e13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28388413/>

36. Vogel E, Santos D, Mingels L, Verdonckt T-W, Broeck J Vanden. RNA Interference in Insects: Protecting Beneficials and Controlling Pests [Internet]. Vol. 9, Frontiers in Physiology. 2019 [cited 2020 May 1]. p. 1912. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2018.01912>
37. Wuriyanghan H, Rosa C, Falk BW. Oral Delivery of Double-Stranded RNAs and siRNAs Induces RNAi Effects in the Potato/Tomato Psyllid, *Bactericerca cockerelli*. PLoS One [Internet]. 2011 Nov 16 [cited 2020 Aug 24];6(11):e27736. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027736>
38. Xiong Y, Zeng H, Zhang Y, Xu D, Qiu D. Silencing the HaHR3 gene by transgenic plant-mediated RNAi to disrupt *Helicoverpa armigera* development. Int J Biol Sci [Internet]. 2013 Apr 23 [cited 2020 Aug 24];9(4):370–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23630449>
39. Wu K-M, Lu Y-H, Feng H-Q, Jiang Y-Y, Zhao J-Z. Suppression of Cotton Bollworm in Multiple Crops in China in Areas with Bt Toxin–Containing Cotton. Science (80-) [Internet]. 2008 Sep 19 [cited 2020 Aug 24];321(5896):1676 LP – 1678. Available from: <http://science.sciencemag.org/content/321/5896/1676.abstract>
40. Noriega D, Valencia A, Villegas B. ARN de interferencia (ARNi): una tecnología novedosa con potencial para el control de insectos plaga. Rev UDCA Actual Divulg Científica [Internet]. 2016 [cited 2020 Sep 10];19(1):25–35. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v19n1/v19n1a04.pdf>
41. Kumar P, Pandit SS, Baldwin IT. Tobacco Rattle Virus Vector: A Rapid and Transient Means of Silencing *Manduca sexta* Genes by Plant Mediated RNA Interference. PLoS One [Internet]. 2012 Feb 1 [cited 2020 Sep 10];7(2):e31347. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031347>
42. Gong L, Chen Y, Hu Z, Hu M. Testing Insecticidal Activity of Novel Chemically Synthesized siRNA against *Plutella xylostella* under Laboratory and Field Conditions. PLoS One [Internet]. 2013 May 7 [cited 2020 Sep 10];8(5):e62990. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062990>
43. Sáenz A. Susceptibilidad de *plutella xylostella* a heterorhabditis sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae). Rev Colomb Entomol [Internet]. 2012 [cited 2020 Sep 10];38(1):94–6. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v38n1/v38n1a16.pdf>
44. Deise Cagliari, Ericmar Avila dos Santos, Naymá Dias GS and MZ. Nontransformative Strategies for RNAi in Crop Protection. In 2018 [cited 2020 Sep 10]. p. 1–18. Available from: <https://www.intechopen.com/books/modulating-gene-expression-abridging-the-rnai-and-crisper-cas9-technologies/nontransformative-strategies-for-rnai-in-crop-protection>
45. Šafářová D, Brázda P, Navrátil M. Effect of artificial dsRNA on infection of pea plants by pea seed-borne mosaic virus. Czech J Genet Plant Breed [Internet]. 2014 [cited 2020 Sep 10];50(2):105–8. Available from: https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/120_2013-CJGPB.pdf
46. Preall JB, Sontheimer EJ. RNAi: RISC Gets Loaded. Cell [Internet]. 2005 [cited 2020 Sep 10];123(4):543–5. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867405011645>
47. Lippman Z, Martienssen R. The role of RNA interference in heterochromatic silencing. Nature [Internet]. 2004 [cited 2020 Sep 10];431(7006):364–70. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature02875>
48. Feinberg EH, Hunter CP. Transport of dsRNA into cells by the transmembrane protein SID-1. Science [Internet]. 2003 Sep [cited 2020 Sep 12];301(5639):1545–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12970568/#:~:text=Here%2C we demonstrate that SID,that systemic RNAi in C>
49. Borgio JF. RNAi mediated gene knockdown in sucking and chewing insect pests. J Biopestic [Internet]. 2010 [cited 2020 Sep 12];3(1):386–93. Available from: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20133182520>
50. Koch A, Biedenkopf D, Furch A, Weber L, Rossbach O, Abdellatef E, et al. An RNAi-Based Control of *Fusarium graminearum* Infections Through Spraying of Long dsRNAs Involves a Plant Passage and Is Controlled by the Fungal Silencing Machinery. PLOS Pathog [Internet]. 2016 Oct 13 [cited 2020 Sep 12];12(10):e1005901. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005901>

51. Wang M, Thomas N, Jin H. Cross-kingdom RNA trafficking and environmental RNAi for powerful innovative pre- and post-harvest plant protection. *Curr Opin Plant Biol* [Internet]. 2017/05/29. 2017 Aug [cited 2020 Sep 12];38:133–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28570950>
52. Cagliari D, Dias NP, Galdeano DM, dos Santos EÁ, Smagghe G, Zotti MJ. Management of Pest Insects and Plant Diseases by Non-Transformative RNAi [Internet]. Vol. 10, *Frontiers in Plant Science*. 2019. p. 1319. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2019.01319>

Seropositividad de *Brucella abortus* en ganado bovino de Aguazul - Casanare

Seropositivity of *Brucella abortus* in cattle from Aguazul - Casanare

Moscoso Gama Johanna Marcela¹, Álvarez Carreño Karen Andrea², Ballesteros Muñoz Diana Ximena³, Cortes Avellaneda Sandra Liliana⁴

Resumen

Introducción. La Brucelosis bovina, es una enfermedad bacteriana e infecto contagiosa, causada por *Brucella abortus*. Se transmite a través de la ingestión de forrajes y aguas contaminadas con descargas vaginales infectadas, que conlleva a una patología del sistema reproductor en bovinos, que impactan la sanidad pecuaria y la economía de la agroindustria.

Objetivo. Evaluar el comportamiento de la brucelosis bovina en el municipio de Aguazul, Casanare (Colombia) y los factores asociados al desarrollo de esta enfermedad. **Metodología.** Estudio descriptivo de 26.187 muestras de suero sanguíneo de ganado bovino evaluadas, que corresponden a 260 predios del municipio de Aguazul. Se empleó técnicas serológicas como rosa de bengala, fluorescencia polarizada y ELISA competitiva para la evaluación de positividad a *Brucella abortus* y se evaluaron las pérdidas económicas asociadas a positividad en los ensayos de laboratorio. **Resultados y conclusiones.** La positividad a brucelosis bovina correspondió al 1%, que corresponde a hembras menores de 24 meses de edad y entre 37 a 48 meses y, machos entre los 57 a 68 meses de edad. Se sugiere consolidar esfuerzos en investigación para evaluar los factores que contribuyen a la seropositividad en el ganado y el riesgo para la propagación y mantenimiento de la enfermedad.

Palabras claves: *Brucella abortus*, brucelosis bovina, prueba de rosa de bengala, fluorescencia polarizada, ELISA competitiva, Epidat.

1. Bacterióloga y laboratorista clínico.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9275-8983>
Dirección: Carrera 81b no.19b-80; Teléfono:3194400887. Correo: kaalvarez@unicolmayor.edu.co

2. Bacterióloga y laboratorista clínico.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0988-9072>

3. Bacterióloga y gerente general del laboratorio ZOOLAB S.A.S.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7422-7847>

4. Investigadora del semillero de Enfermedades Crónicas, Zoonóticas y Adquiridas ECZA, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9963-5978>

Correo electrónico de correspondencia: kaalvarezcarr21@gmail.com

Abstract

Introduction. Bovine brucellosis is a contagious bacterial and infectious disease caused by *Brucella abortus*. It is transmitted through the ingestion of forage and water contaminated with infected vaginal discharges, which leads to a pathology of the reproductive system in bovines, which impacts livestock health and the economy of agribusiness. **Aim.** To evaluate the behavior of bovine brucellosis in the municipality of Aguazul, Casanare (Colombia) and the factors associated with the development of this disease. **Methodology.** Descriptive study of 26,187 bovine blood serum samples evaluated, corresponding to 260 farms in the municipality of Aguazul. Serological techniques such as rose bengal, polarized fluorescence, and competitive ELISA were used to evaluate positivity to *Brucella abortus* and the economic losses associated with positivity in laboratory tests were evaluated. **Results and conclusions.** The positivity to bovine brucellosis corresponded to 1%, which corresponds to females under 24 months of age and between 37 to 48 months and males between 57 to 68 months of age. It is suggested to consolidate research efforts to evaluate the factors that contribute to seropositivity in cattle and the risk for the spread and maintenance of the disease.

Keywords: *Brucella abortus*, bovine brucellosis, Bengal rose test, polarized fluorescence, Competitive ELISA, Epidat.

Introducción

La brucellosis es una enfermedad infecciosa, producida por una bacteria llamada *Brucella abortus*; este microorganismo aerobio, tiene una morfología de cocobacilo Gram negativo, no produce cápsula, no tiene la capacidad de esporular y no es móvil. Se clasifica filogenéticamente, en la subdivisión alfa-2 de las Proteobacterias, junto con *Ochrobactrum*, *Rhizobium*, *Rhodobacter*, *Agrobacterium*, *Bartonella* y *Rickettsia*. Este patógeno intracelular obligado, afecta principalmente a animales domésticos y silvestres e incluso al humano. En bovinos, se presenta como una enfermedad crónica debilitante, producen-

do aborto espontáneo, por ende, es catalogada como una enfermedad reproductiva, con consecuencias económicas altamente significativas para los países productores (1,2).

Si bien es cierto que muchos factores pueden influir en la instauración y propagación de la brucellosis cuando el ganado es expuesto a este agente; la vía de transmisión más común a animales está relacionada con la ingestión de forrajes y aguas contaminadas con descargas vaginales infectadas. El contagio en animales se describe teniendo en cuenta que las especies de *Brucella* spp son eliminadas en las secreciones uterinas después de un aborto o parto (3).

Por ello cabe destacar, que la mayor concentración del microorganismo en los animales infectados se encuentra en: la placenta, el feto, las membranas fetales y en el contenido uterino y en menor concentración, se puede encontrar en orina, heces y leche. Básicamente, la infección del ganado se establece de dos maneras, la transmisión no venérea, que destaca las vías de entrada más comunes, entre las cuales se encuentran las mucosas nasales y orales y la transmisión venérea menos común, a través del método de reproducción asistida como la inseminación artificial (3).

Teniendo en cuenta que, *Brucella abortus* se localiza principalmente en el sistema reproductivo tanto de hembras como de machos, el signo clínico más común cuando se presenta la infección es el aborto y la infertilidad en bovinos (3,4,5). En hembras preñadas, la infección llega a constituirse en una enfermedad crónica, que conduce a una reducción del 25% en la producción de leche (6). Debido a que esta bacteria se replica dentro de los trofoblastos corioalantoides de la placenta, se produce como consecuencia, placentitis, muerte fetal y posteriormente aborto. Por otro lado, en machos, se desarrollan signos y síntomas sistémicos, siendo la orquitis el signo más común; a menudo, asociada con la vesiculitis y la epididimitis; todo esto conduce a una fibrosis del parénquima testicular, dando como resultado no solo el deterioro de la producción seminal, sino también la infertilidad parcial o permanente del toro (3,4,5).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera la brucellosis como una de las siete zoonosis más extendidas a nivel mundial y menos priorizada por los sistemas de salud (7). Países como América Latina, Oriente Medio, África y Asia no han erradicado dicha enfermedad.

Puntualmente, en el municipio de Aguazul - Casanare, según los boletines epidemiológicos del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), se reportó una positividad de brucellosis del 7.8% (40 cabezas de ganado), 8% (16 cabezas de ganado) y 4% (317 cabezas de ganado) en los años 2013, 2014 y 2015 respectivamente. (8, 9,10). No obstante, los bovinos examinados no alcanzan ni siquiera el 50% de la muestra trabajada en este estudio.

Por otro lado, un tratamiento rápido y adecuado y una prevención de la diseminación de la brucellosis, se facilita iniciando con un correcto diagnóstico; en Colombia, el diagnóstico de esta enfermedad se rige, por las resoluciones que expide el ICA, quien es la entidad responsable de la sanidad agropecuaria del país (11). De esta manera, según la resolución vigente, se deben realizar pruebas tamiz de detección de anticuerpos en suero sanguíneo o suero de leche, que pueden ser: la prueba de aglutinación de rosa de bengala, fluorescencia polarizada (FPA), ELISA indirecta o fijación de complemento. Por la normativa, toda prueba tamiz positiva o caso sospechoso, debe confirmarse

con ELISA competitiva, que es aplicada por su alta especificidad; si esta prueba resulta positiva, los animales son destinados al sacrificio (11). En el presente estudio siguiendo la normativa se emplearon los inmunoensayos de rosa de bengala, fluorescencia polarizada y ELISA competitiva.

No obstante, cabe aclarar que esta enfermedad no tiene cura; por ende, la vacunación es una estrategia solo para el control y prevención de la misma; el programa nacional de brucelosis bovina, ha establecido que los bovinos a vacunar serán las hembras de 3 a 8 meses de edad en el ciclo de vacunación anual, aplicado junto con el programa de control contra la fiebre aftosa, contrario a los machos a quienes no se les realiza la vacunación (11). Las vacunas admitidas son la cepa 19 o la cepa RB51; que son aplicadas dependiendo de la edad del bovino (12). Cabe aclarar que la vacuna C19 induce a la producción de anticuerpos que interfieren en las pruebas serológicas; pues las mismas no distinguen entre anticuerpos vacúnales y los inducidos por cepas patógenas de *Brucella* spp, dando lugar a falsos positivos. En cuanto a las reacciones falsas negativas, se producen muy raramente, sobre todo debido a fenómenos de prozona (13).

El presente estudio se realizó en 260 fincas en el municipio de Aguazul, Casanare en el periodo del año 2013 a 2015; con el fin de investigar, determinar y aproximar la seropositividad de la brucelosis bovina a

partir de suero sanguíneo. También, se relacionaron los factores de riesgo asociados a la enfermedad y las implicaciones económicas como consecuencia de la diseminación de la misma para los hatos que resultaron positivos.

La trascendencia en el reconocimiento de la brucelosis en el ganado a trabajar implica apoyar al sector ganadero, orientar las medidas necesarias para diagnósticos oportunos y diseñar campañas para la aplicación de medidas preventivas, lo que podría favorecer en la disminución de los casos reportados de esta enfermedad.

De acuerdo a los datos obtenidos, se identificó una seropositividad de brucelosis bovina en los 260 predios de 1% en Aguazul; bajo el apoyo de una revisión literaria se describió la asociación de diversos factores que posiblemente sean evidencia de la realidad de esta patología en este municipio que impactan negativamente a la economía regional.

Materiales y métodos

Caracterización del ganado y los predios

Los predios analizados fueron debidamente caracterizados a través de una encuesta que permitió reconocer aspectos relacionados

con el tipo de explotación, la presencia de otro tipo de animales diferentes a bovinos, las fuentes de agua que se utilizan para alimentar a los animales, las vacunas aplicadas en los especímenes y la infraestructura de la finca; estableciendo así los posibles factores predisponentes para la presentación de brucelosis.

Recolección de muestras

Para la detección de brucelosis en ganado, se requiere detectar anticuerpos específicos anti-brucella a través de inmunoensayos en suero sanguíneo. De esta manera, para el muestreo en los predios de Aguazul, se recolectó sangre total, que posteriormente fue centrifugada y analizada por medio de tres inmunoensayos: rosa de bengala y fluorescencia polarizada como pruebas tamiz y la prueba de ELISA competitiva que se utilizó como estrategia confirmatoria. En total, en los 260 predios se recolectaron 26.187 muestras de bovinos en edad reproductiva o muy cercanos a la misma.

Análisis serológico:

La presencia del agente bacteriano causante de aborto espontáneo se reconoce a través de la detección de anticuerpos en bovinos en edad reproductiva. En esta oportunidad, se realizaron cinco muestreos, con un intervalo de 4 meses entre cada uno; entre los cuales, cuando un bovino resultaba positivo y era confirmado por ELISA competitiva, se

aplicaban las medidas de saneamiento. De esta manera, el total de muestras, se obtuvieron acorde a la disponibilidad de predios y de bovinos tras aplicar las medidas de saneamiento según lo establecido en la resolución 1332 del 2013 (11), asegurando la óptima ejecución en los intervalos de tiempo requeridos (Tabla 1).

Tabla 1. Total de muestras obtenidas en los cinco muestreos durante el estudio.

	Total de predios intervenidos	Total de muestras obtenida
Muestreo 1	260	9037
Muestreo 2	168	5661
Muestreo 3	66	4798
Muestreo 4	55	4716
Muestreo 5	2	362

Fuente: Elaboración propia.

Métodos serológicos:

El diagnóstico de la brucelosis a partir de muestras de suero sanguíneo, se basa en la detección de anticuerpos contra el lipopolisacárido por métodos indirectos que permiten evaluar la respuesta inmune del animal frente a la infección bacteriana, entre ellos la prueba de rosa de bengala, fluorescencia polarizada y ELISA competitiva.

La prueba de rosa de bengala, es una técnica que permite determinar a través de antígenos teñidos de color rosa, la presencia de

anticuerpos contra *Brucella* sp.; la unión de antígeno- anticuerpo se puede evidenciar a través de una aglutinación en placa que demarca un resultado positivo en pocos minutos (14,15).

Por otro lado, la prueba de fluorescencia polarizada, es un ensayo basado en el principio físico, donde la velocidad de rotación de las moléculas en un medio líquido depende de la masa. La FPA maneja tres conceptos claves, 1) Fluorescencia, la fluoresceína absorbe la luz y la libera como luz fluorescente a una longitud mayor; 2) la velocidad de rotación en una solución, cuanto más pequeña sea una molécula, más rápido gira y mayor será la despolarización que produce. 3) la luz polarizada, por sus propiedades permite distinguir la unión entre Ag-Ab a través de la tecnología de polarización por fluorescencia. Esto quiere decir que, el complejo Ag-Ab absorbe la luz polarizada emitida, luego rota según su masa y la libera en un plano diferente en forma de fluorescencia polarizada que es detectada por un medidor que genera resultados a través de una curva. Por ende, la presencia de anticuerpos anti-*Brucella* en el suero de un bovino es inversamente proporcional a la señal de luz polarizada emitida (15). A mayor masa menor velocidad de rotación, mayor cantidad de uniones de Ag-Ab.

Las pruebas ELISA se basan en la unión específica de los anticuerpos de la muestra al antígeno inmovilizado. La visualización de

la unión se presencia gracias a una reacción química o enzimática. La ELISA competitiva a diferencia de las demás, utiliza epítopos específicos del LPS-s de *Brucella*, lo que aumenta la especificidad en los ensayos (15).

La debida interpretación de las muestras de bovinos trabajadas durante este estudio, se realizó a través de cinco muestreos; Es importante aclarar que solo se logró realizar la confirmación por ELISA competitiva hasta el cuarto muestreo, para el quinto por la disponibilidad de predios y el tiempo de ejecución del estudio no se alcanzó aplicar la estrategia confirmatoria.

Para la compresión de dichos resultados positivos y negativos y de igual manera para lograr asociar los factores predisponentes vinculados con la presentación de la enfermedad en los hatos trabajados se realizó una base de datos en Microsoft Excel, que permitiera tabular y recolectar los datos obtenidos durante los muestreos realizados. Para la determinación de la seropositividad de los bovinos analizados y un análisis estadístico epidemiológico óptimo se utilizó el software Epidat.

Resultados

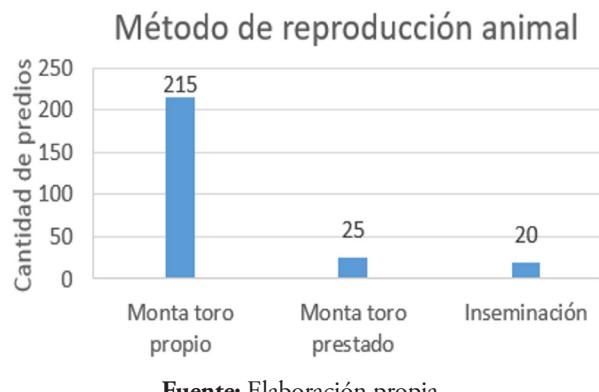
Resaltando la importancia de la erradicación de la brucellosis en Colombia, como punto de partida para cumplir con los requisitos

de exportación a nivel internacional y mantener la calidad de salud pública del país, la recolección de datos epidemiológicos se torna fundamental para reconocer la situación actual, principalmente en una zona productora como lo es Aguazul-Casanare.

En Colombia, para la fecha tras realizar la depuración de datos obtenidos en el periodo de 2013-2015; el punto de partida fue el análisis de posibles factores asociados a través de diversas encuestas realizadas a los ganaderos partícipes de este estudio.

Es importante destacar que, en los 260 predios trabajados, 32 de ellos presentan al menos un aborto al año. Por supuesto el tipo de explotación ganadera es un factor predisponente para la presentación de dicha enfermedad y por consiguiente la pérdida del bovino; el mayor tipo de explotación es lechera (Figura 1).

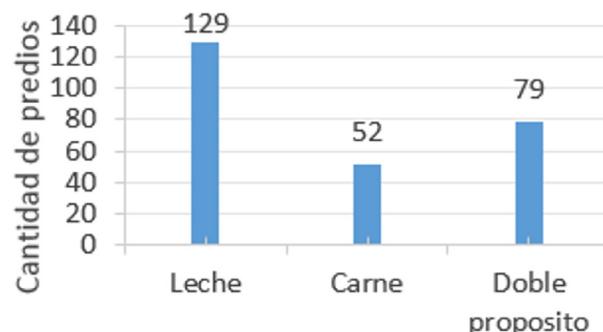
Figura 1. Método de reproducción animal utilizado en los predios de Aguazul-Casanare 2013-2015.



De igual forma, los ganaderos de Aguazul utilizan la monta natural con toro propio como método predominante para la reproducción

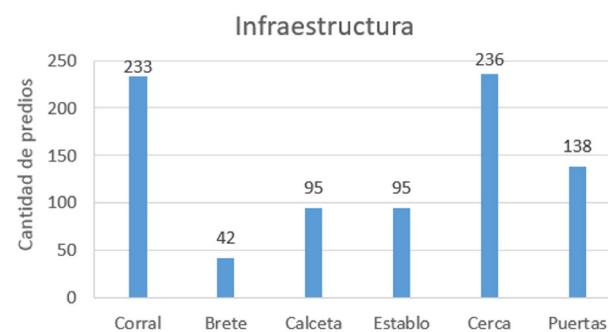
bovina (Figura 2). Otro aspecto influyente que se evaluó, fue el tipo de infraestructura, en el que se halló una mayor utilización de cercas para separar las diferentes explotaciones en el predio y un menor número de uso de bretes

Figura 2. Tipo de explotación en los predios de Aguazul-Casanare 2013-2015.



Fuente: Elaboración propia.

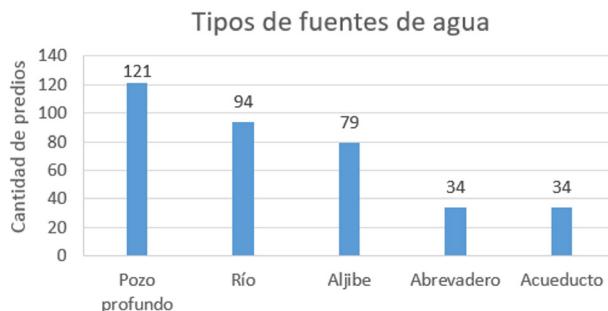
Figura 3. Tipo de infraestructura de los predios de Aguazul-Casanare 2013-2015.



Fuente: Elaboración propia.

En efecto, en este estudio, es importante resaltar que solo 34 predios alimentan a sus animales con agua de acueducto, mientras que una gran parte utilizan como fuente para consumo de agua un pozo profundo y un río (Figura 4).

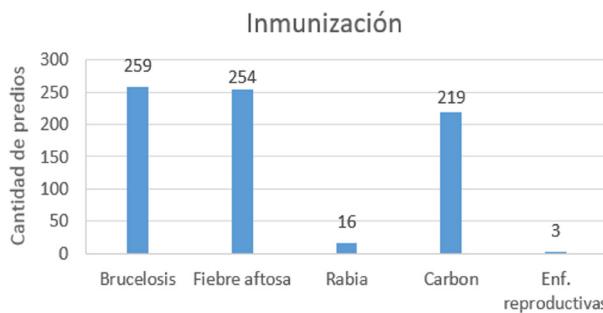
Figura 4. Fuentes de agua utilizadas para el alimento de los animales de Aguazul 2013-2015.



Fuente: Elaboración propia.

Por otro lado, se observó que 259 predios aguazuleños vacunaron contra la brucelosis en dicho periodo (Figura 5).

Figura 5. Vacunas aplicadas para la prevención de enfermedades en bovinos de los predios de Aguazul-Casanare 2013-2015.

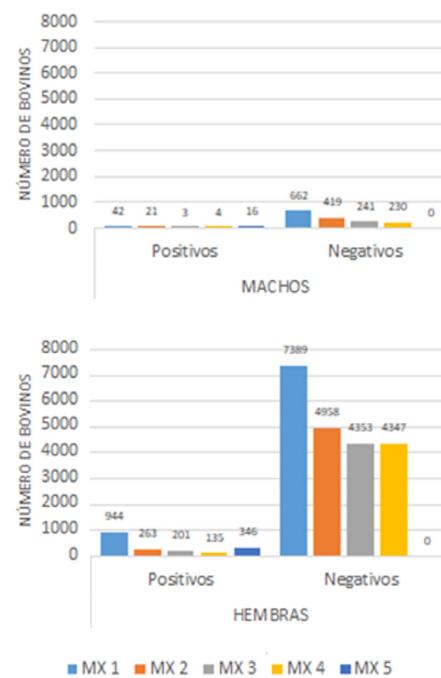


Fuente: Elaboración propia.

Seropositividad

En efecto, como se ha mencionado se muestrearon tanto hembras como machos (Figura 6), lo cual evidencia que en el proceso de producción que se desarrolla en el municipio, la presencia de hembras fértiles es esencial para obtener la materia prima, y los machos son parte del proceso de reproducción bovina. No obstante, en todos los muestreos hubo positividad destacable en hembras.

Figura 6. Positividad para los muestreos con Rosa de bengala según sexo para los predios Agualzul-Casanare, 2013-2015.



*Machos y Hembras, positivos y negativos para los muestreos con Rosa de bengala (aplicado en el MX1 - muestreos 1) y FPA (aplicado en el MX2, MX3, MX4, MX5 – muestreos 2, 3, 4 y 5)

Fuente: Elaboración propia.

Para la óptima comprensión de la seropositividad establecida; se halló que del total de la población, 260 hembras y 3 machos fueron positivos para brucelosis, lo que se traduce en una prevalencia del 1% de la enfermedad del total de bovinos muestreados (Figura 7).

Figura 7. Positividad del total de muestreos 2013-2015.

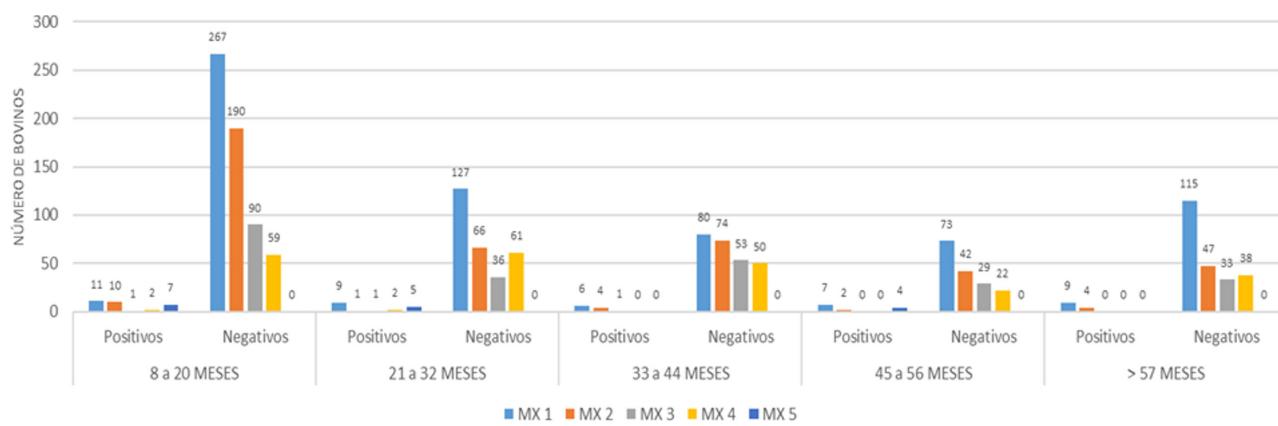


Fuente: Elaboración propia.

Para facilitar la interpretación de los datos respecto al sexo, los machos y hembras se organizaron en grupos de 12 meses partiendo desde las edades fériles de 8 y 24 meses

respectivamente. Así mismo, se incluyeron muestreos en hembras muy cercanas a la edad fértil para evaluar su posible positividad. (Figuras 8 y 9).

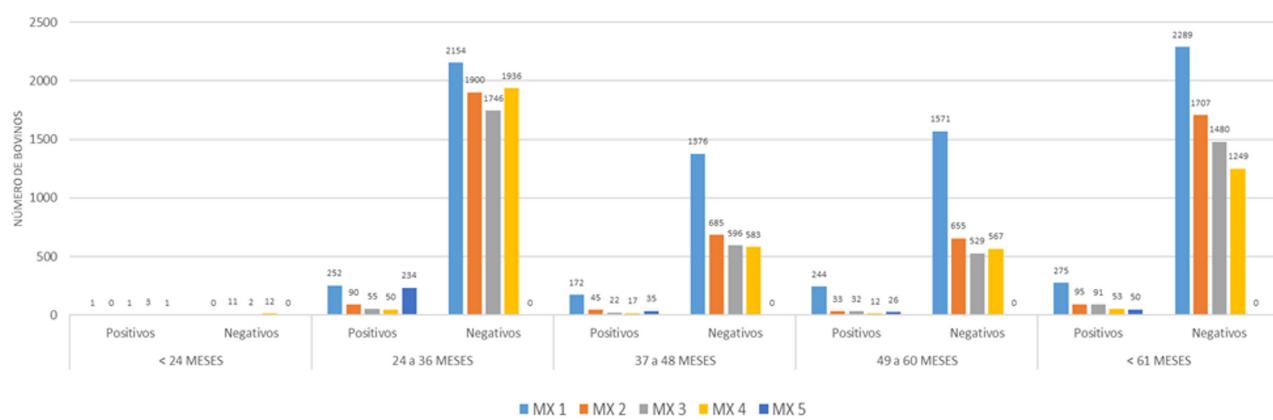
Figura 8. Positividad de los muestreos en machos de los predios Aguazul-Casanare, 2013-2015.



* Rosa de bengala (aplicado en el MX1 - muestreos 1) y FPA (aplicado en el MX2, MX3, MX4, MX5 – muestreos 2, 3, 4 y 5)

Fuente: Elaboración propia.

Figura 9. Positividad de los muestreos en hembras de los predios Aguazul-Casanare, 2013-2015.



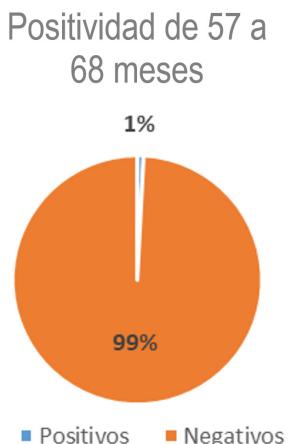
* Rosa de bengala (aplicado en el MX1 - muestreos 1) y FPA (aplicado en el MX2, MX3, MX4, MX5 – muestreos 2, 3, 4 y 5)

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a la positividad observada para los períodos de meses establecidos, claramente las edades de 8 a 20 meses en machos y de 24 a 36 meses en hembras muestran una destacable positividad a diferencia de otros grupos etarios.

Teniendo en cuenta lo anterior, en machos la agrupación con la seropositividad más representativa fue en las edades de entre 57 a 68 meses; obteniendo así, una prevalencia del 2% para dicho grupo. Por su parte, en hembras la agrupación con la seropositividad más significativa fue en las menores de 24 meses; cuya prevalencia representa el 3%; seguido de la agrupación de 37 a 48 meses, con un 2% de prevalencia. (Figuras 10 y 11)

Figura 10. Positividad en Machos más destacada en los predios trabajados 2013-2015



Fuente: Elaboración propia.

Figura 11. Positividad en Hembras más destacada en los predios trabajados 2013-2015.



Fuente: Elaboración propia.

Discusión

La presentación de la brucellosis bovina y la seropositividad de la misma en los predios trabajados puede vincularse con posibles factores de asociación; como, por ejemplo, el método de reproducción, la infraestruc-

tura del predio, las fuentes de agua, la inmunización y la limpieza tras un aborto, este último aspecto no fue incluido en las encuestas realizadas, sin embargo, es uno de los factores más importantes en la diseminación de la enfermedad. Es por ello, que estudios previos aseguran la vital importancia del proceso de desinfección del medio ambiente tras un aborto, ya que disminuye la probabilidad de que el riesgo ocurra (16).

Por ello, el método de reproducción animal, es un factor que influye como la transmisión más común; según el estudio de Lilianna Cárdenas, et all (17), la entrada de toros es un factor de riesgo para la introducción de la infección en ganados previamente libres de brucelosis; a pesar de ello, se encontró que la inseminación artificial tiene un mayor riesgo (17). Relacionado con el 1% de seropositividad obtenido en este estudio; para la reproducción, el 81% de los ganaderos optan por la monta natural, por el contrario, la inseminación artificial es un mecanismo utilizado por el 7.6% de los predios, lo que sugiere que la monta natural se puede correlacionar en mayor medida con el riesgo de transmitir la enfermedad.

Por otro lado, la principal vía de entrada de *Brucella* spp es la oral y esto se puede dar a través de agua contaminada; con respecto a esto, es de resaltar que un bajo número de ganaderos utilizan acueducto (12.92%) para alimentar a sus animales y que por otra parte, utilizan con mayor frecuencia un río

para este fin (35.74%), por lo que se establece que el beber agua de un río, tiene un mayor riesgo, debido a que otros animales de las fincas cercanas beben también de allí, y por ende es un vehículo que puede transportar diversas enfermedades entre ellas, la brucellosis. Debido a que este patógeno a 37°C puede sobrevivir al menos un día y a 8°C alcanza los 57 días. (18)

Ahora bien, varios autores aseguran que la presencia de granjas mixtas, también se ha asociado con una alta prevalencia de brucellosis y el resurgimiento de la enfermedad, de manera que es trascendental conocer que otro tipo de animales que se están explotando en Aguazul-Casanare; reconociendo lo anteriormente dicho, la mayor especie diferente a bovinos que se explota y se produce en los predios ganaderos son los porcinos, animales potencialmente peligrosos en cuanto a la diseminación de la enfermedad, por ser huéspedes naturales de *Brucella suis*, este no se pudo evidenciar en los porcinos en los predios trabajados, de manera que no se puede asegurar una relación entre especies y la brucellosis en nuestro estudio. En relación con otros estudios no se ha evidenciado la asociación entre *Brucella* y la presencia en otras especies de animales en la granja, ni con nuevos animales comprados que pueden ser reservorios de la enfermedad (17). Por consiguiente, también se tuvo en cuenta el tipo de infraestructura en las explotaciones ganaderas y las vacunas aplicadas; en primer lugar, el tipo de infraestructura es

importante, debido a que entre más libertad tenga el animal en moverse, mayor será la probabilidad de diseminar la brucelosis en bovinos y entre animales de diferentes especies. En este estudio se encontró que la gran mayoría de los ganaderos tienen una cerca (89.73%) para su explotación correspondiente, caso que contribuyó a la seropositividad de esta enfermedad reproductiva.

En segundo lugar, cuando se pretende prevenir y controlar una enfermedad, proveer a los bovinos inmunización a través de un programa de vacunación es vital. Es por ello, que se entiende que la brucelosis, es una enfermedad que no tiene tratamiento, siendo necesaria su prevención a través de diferentes vacunas ofrecidas a la hora de erradicar y controlar esta enfermedad en áreas endémicas; en Colombia se ha establecido un programa de vacunación obligatoria contra la brucelosis junto con la fiebre aftosa; es de destacar que 98.47% de predios vacunaron contra la brucelosis en dicho periodo, más sin embargo hubo una seropositividad de la enfermedad de un 1%; Por otra parte, en el trabajo de P. H. Bayemi, et all (19), se determinó que la seropositividad hallada de brucelosis bovina corresponde a un 7.3 % en hembras y un 8% en toros. Sin embargo, en el estudio de Gervais Ndazigaruye, et all (20), se evidenció que la seropositividad en machos fue menor (16.7%) en comparación con las hembras (19%). Además de esto, los resultados de este estudio indican que las edades de mayor seropositividad fueron las

menores a 24 meses, edad en que las bovinos aún tienen presentes anticuerpos vacúnales, por lo que se puede asegurar que dicha seropositividad es causada por dichos anticuerpos; contrario a esto, los resultados del estudio Gervais Ndazigaruye, et all (20) encontraron una mayor prevalencia de brucelosis en animales mayores de 3 años que en animales menores de 3 años, explicando que entre más viejos estén los animales, mayor exposición a la enfermedad han tenido y que probablemente son portadores inmunes y quizás persistentes.

En cuanto a, los años anteriores como en el 2009, la incidencia de brucelosis bovina en Colombia era de 1,85 casos con una prevalencia de 4.7% (21). Para los años posteriores (2006 y 2012), se encontró un porcentaje de granjas y animales positivos con un promedio de 22–23% y 4.7–4.6%, respectivamente (18) y para el año entre 2013 y 2015 se halló una seropositividad del 1% de *Brucella abortus* en Aguazul; en todo caso, un estudio del año de 2011 se analizó la prevalencia de brucelosis en este municipio, donde se muestrearon 2.700 animales en 66 predios, 299 animales resultaron positivos. Se describió una prevalencia del 11% en animales, 61% en los predios y 50 % de las veredas del territorio casanareño (22). Esta prevalencia del 11% de brucelosis bovina permite asegurar, que para años posteriores la enfermedad se ha venido controlando y que por lo tanto los ganaderos han implementado las medidas de aseguramiento de

la sanidad animal, como por ejemplo la vacunación. No obstante, en nuestro estudio de 26.187 muestras de suero, el 1% sigue siendo un valor significativo.

Evidentemente, la ganadería bovina colombiana tiene una dinámica favorable. Según el DANE para estas fechas, la ganadería colombiana aportaba el 3.6% del PIB nacional; además, tenía una participación del 27% del PIB agropecuario y un 64% del PIB pecuario. En cuanto a la región estudiada (Aguazul-Casanare), contaba para el año 2013 con 17.212.265 cabezas de ganado, según el segundo ciclo de vacunación contra la fiebre aftosa y brucelosis bovina del año 2012. Esto, permite asegurar que, en este departamento la ganadería es la actividad económica más importante; Por su parte, dicho departamento en este ciclo de vacunación registró 104.361 cabezas; donde, 62.929 eran hembras y 41.432 eran machos. Para tal efecto, los movimientos económicos registrados en el 2012 en aguazul eran de: \$10.735.766.840 e involucraron 14.811 semovientes (22). De ahí la importancia de la brucelosis bovina, ya que siendo una enfermedad reproductiva tiene un gran impacto sobre dicha economía, debido a la pérdida de la cría, días abiertos, la lactancia y demás aspectos relacionados.

Por otra parte, las estimaciones oficiales sobre las pérdidas anuales por brucelosis bovina en Latinoamérica son de aproximadamente 600 millones de dólares, por ello,

la importancia del control de esta infección (23); para Colombia, se estima que las pérdidas económicas asociadas a esta enfermedad, varían de \$3'000000 a \$ 10'000000 por animal infectado al año (24); Por un lado, entre las pérdidas directas se encuentran los abortos y la retención de placetas, lo cual genera una disminución de hasta un 50% de la producción de terneros y consigo el retardo de la multiplicación del hato (23), de manera que, el aborto puede llegar a presentarse a los 7 meses de gestación; es decir 210 días donde se involucra los días abiertos o de mantenimiento que cuesta en promedio \$12.000 pesos colombianos cada uno. Esto quiere decir que 210 días multiplicado por el costo individual (\$12.000), alcanza casi los \$2.520.000. Por su parte, un bovino produce hasta 5 litros de leche al día, el precio de cada litro se redondea los \$600 pesos; entonces se obtiene \$3.000 pesos diarios por bovino. Retomando los 210 días se alcanzan al menos \$630.000 por bovino. Adicional a esto, la cría puede costar alrededor de \$600.000 pesos, en un macho en pie cada kg de su peso cuesta aproximadamente \$2.800 pesos, en promedio un ternero macho pesa 180 Kg, lo que indica que su precio redondea los \$552.000 pesos. Independiente de esto, el sacrificio de la vaca y su pérdida es de aproximadamente \$1.500.000. Como resultado se tiene entonces que, la suma entre los días abiertos \$2,520.000, la lactancia \$630.000, la cría \$552.000, la vaca \$1,500.000, resulta en una pérdida total de aproximadamente \$5'202.000 (25). A parte

de esto, se encuentran las pérdidas indirectas donde se generan pérdidas económicas por el mantenimiento improductivo de vacas que no producen terneros y además la esterilidad total del animal (23). Adicionalmente, se debe incluir el valor productivo y genético del animal positivo, de manera que, un animal positivo como se ha mencionado anteriormente se envía a la planta de sacrificio, con un pago por su peso, más no por el valor agregado (su potencial genético y productivo) representado en \$1'000.000 (USD 350,3) aproximadamente (25).

En síntesis, las pérdidas económicas de los ganaderos en total de Aguazul-Casanare, fueron de aproximadamente \$1.368.126.000 pesos colombianos en este estudio.

Como parte del avance científico, administrativo y normativo se debe realizar un fuerte énfasis en la necesidad de continuar observando este tipo de estudios que evidencien la situación dinámica de una enfermedad con alto impacto como la brucelosis, la cual conlleva a múltiples problemáticas que deben asumir con responsabilidad tanto el ganadero como los respectivos entes territoriales y de comercio.

Conclusiones y recomendaciones

A partir del análisis de los datos obtenidos, se determinó que en los 260 predios mues-

treados en Aguazul-Casanare, de las 26.187 cabezas de ganado, el 1% (263 bovinos) resultaron seropositivos para brucelosis bovina.

En consecuencia, el 1% de seropositividad hallado puede asociarse con diversos factores, como el tipo de infraestructura, el método de reproducción, las fuentes de agua y primordialmente el incumplimiento con los ciclos de vacunación. Es decir, estos aspectos causales no solo se deben tener en cuenta, sino que deben ser impactados directamente para lograr establecer un control frente a esta enfermedad.

En definitiva, los hatos presentaban menor seropositividad con cada muestreo, por lo que se puede asumir que, las medidas de saneamiento fueron aplicadas. En total para los predios de Aguazul-Casanare, las perdidas económicas fueron de aproximadamente \$1.368.126.000 pesos colombianos.

Como parte del avance científico, administrativo y normativo se debe realizar un fuerte énfasis en la necesidad de continuar observando este tipo de estudios que evidencien la situación dinámica de una enfermedad con alto impacto como la brucelosis, la cual conlleva a múltiples problemáticas que deben asumir con responsabilidad tanto el ganadero como los respectivos entes territoriales y de comercio.

Respectivamente, la regulación por parte del Estado debe enfatizar en la vigilancia

y reglamentación en la industria ganadera, garantizando la seguridad alimentaria. También, se debe profundizar en próximos estudios la Brucellosis en humanos, recalando el impacto de esta zoonosis en salud pública.

Para futuras investigaciones, se deben tener en cuenta dentro de las encuestas, la manera de desinfección y limpieza tras la presentación de un aborto de cualquier animal, para analizar si es un factor predisponente para el establecimiento y mantenimiento de la brucellosis. Además, se debe analizar y muestrear otras especies trabajadas en el municipio, para reconocer si otras explotaciones, deben considerarse como factores de riesgo para la presentación de Brucellosis bovina u otras especies de *Brucella* spp.

Agradecimientos

Las autoras agradecen al laboratorio veterinario Zoolab S.A.S de Bogotá, a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca y a los ganaderos de los predios estudiados por brindar los recursos, espacios y materiales necesarios para que se consolidaran los objetivos propuestos por parte del grupo. También, a la Docente Johanna Moscoso y a la doctora Sandra Cortes por guiar este proyecto y permitirnos darlo a conocer en los congresos de ASCILA y REDCOLSI. A los Docentes Ruth Páez y

Alejandro Castaño por sus aportes en este proyecto y por la disposición dada para la evaluación del mismo

Referencias

1. Moreno E, Stackebrandt E, Dorsch M, Wolters J, Busch M, Mayer H. *Brucella abortus* 16S rRNA and lipid A reveal a phylogenetic relationship with members of the alpha-2 subdivision of the class Proteobacteria. *Journal of Bacteriology*.1990; [Internet]. 172(7):3569-3576. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC213329/pdf/jbacter00121-0045.pdf>
2. Yanagi M, Yamasato K. Phylogenetic analysis of the family Rhizobiaceae and related bacteria by sequencing of 16S rRNA gene using PCR and DNA sequencer. *FEMS Microbiology Letters*.1993; [Internet]. 107(1):115-120. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0378109793903648>
3. Nielsen K, Duncan J. Animal Brucellosis.1990; [Internet] [cited 29 April 2019]. Available in: <http://booksdescr.org/item/index.php?md5=B23E3132A50B996B44FFD902316BE9F3>
4. Gyles C, Prescott J, Songer G, Thoen C, Wiley J. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals.2008; [Internet] [cited 29 April 2019]. Available in: <https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=aPESRdyx9kC&oi=fnd&pg=PR5&dq=Brucella.+In+Pathogenesis+of+bacterial+infections+in+animals+THOEN&ots=JcFKFA-rPB&sig=0I8tjp-ljk-2AFI2Jcq2Izg5xHds#v=onepage&q=Brucella&f=false>
5. Plant J, Claxton P, Jakovljevic D, Saram W. BRUCELLA ABORTUS INFECTION IN THE BULL. *Australian Veterinary Journal*.1976; [Internet] [cited 29 April 2019];52(1):17-20. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-0813.1976.tb05363.x>
6. Acha P, Szarfes B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud, Oficina Sanitaria Panamericana; 2003 [Internet]. Available in:<https://www.paho.org/hq/dm/documents/2017/Acha-Zoonosis-Spa.pdf>

7. Young E. An Overview of Human Brucellosis. Clinical Infectious Diseases.1995; [Internet] [cited 29 April 2019]; 21(2):283-290. Available in: <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/21/2/283/292208?redirectedFrom=fulltext>
8. Araujo Baute A, Patiño Álvarez A, Linares Chaparro C, Santander A. COLOMBIA SANIDAD ANIMAL-2013 [Internet]. 2013. Available from: <https://www.ica.gov.co/getattachment/0b099ac3-d670-4c11-be1b-02e50db63047/2013.aspx>
9. Díaz Martínez O, Mendoza Niño E, Linares Chaparro C. Colombia, Sanidad Animal 2014 [Internet]. 2014. Available from: <https://www.ica.gov.co/getattachment/986dd783-8f37-4ab3-bc33-39995bd8c065/2014.aspx>
10. Díaz Martínez O, Mendoza Niño E, Linares Chaparro C, Gasca Cárdenas H. Colombia sanidad animal-2015 [Internet]. 2015. Available from: <https://www.ica.gov.co/getattachment/4d163775-d3d8-47ab-92ba-fa5a0140bfcd/2015.aspx>
11. Colombia, Ministerio de Agricultura, Instituto Colombiano Agropecuario, 2013, Resolución 001332 “Por medio de la cual se actualizan las medidas sanitarias para la prevención, el control y la erradicación de la brucellosis en las especies bovina y bufalina en Colombia”.
12. Enright F, Araya L, Elzer P, Rowe G, Winter A. Comparative histopathology in BALB/c mice infected with virulent and attenuated strains of *Brucella abortus*. Veterinary Immunology and Immunopathology. 1990 [cited 29 April 2019];26(2):171-182. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016524279090065Z?via%3Dihub> [Internet] [cited 29 April 2019];26(2):171-182. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016524279090065Z?via%3Dihub>
13. Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres (mamíferos, aves y abejas) [Internet]. Oie.int. 2004 [cited 18 April 2020]. Available from: <https://www.oie.int/doc/ged/d6508.pdf>
14. Dorneles E, Sriranganathan N, Lage A. Recent advances in *Brucella abortus* vaccines. Veterinary Research. 2015; [Internet] [cited 29 April 2019];46(1). Available in: <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/%2010.1186/s13567-015-0199-7>
15. Głowacka, P., Źakowska, D., Naylor, K., Niemcewicz, M. and Bielawska-Drózd, A. (2018). *Brucella – Virulence Factors, Pathogenesis and Treatment*. Polish Journal of Microbiology, 67(2).
16. Smirnova E, Vasin A, Sandybaev N, Klotchenko S, Plotnikova M, Chervyakova O et al. Current Methods of Human and Animal Brucellosis Diagnostics. Advances in Infectious Diseases. 2013;03(03).
17. Arif S, Thomson P, Hernandez-Jover M, McGill D, Warriach H, Hayat K et al. Bovine brucellosis in Pakistan; an analysis of engagement with risk factors in smallholder farmer settings. Veterinary Medicine and Science. 2019
18. Álvarez-Hernández N, Díaz-Flores M, Ortiz-Reynoso M. Brucellosis, una zoonosis frecuente. Medicina e Investigación. 2015;3(2):129-133.
19. Cárdenas L, Peña M, Melo O, Casal J. Risk factors for new bovine brucellosis infections in Colombian herds. BMC Veterinary Research. 2019;15(1)
20. Bayemi P, Webb E, Nsongka M, Unger H, Njakoi H. Prevalence of *Brucella abortus* antibodies in serum of Holstein cattle in Cameroon. Tropical Animal Health and Production. 2008; 41(2).
21. Ndazigaruye G, Mushonga B, Kandiwa E, Samkange A, Segwagwe B. Prevalence and risk factors for brucellosis seropositivity in cattle in Nyagatare District, Eastern Province, Rwanda. Journal of the South African Veterinary Association. 2018;89.

22. Tique V, González M, Mattar S. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en bovinos del departamento de Córdoba. Scielo.2009 [Internet] [cited 29 April 2019];12(2):51-59. Available in: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262009000200006
23. Alvear Uvidia E, Espinoza Castillo D, Salazar Tenelanda M, Alvear Haro P, Pazmiño Garzón D. Evaluación de las pérdidas económicas causadas por Brucelosis Bovina en las comunidades de Chaguarapata y Launag en el Cantón Chunchi provincia de Chimborazo - Ecuador. Observatorio de la Economía Latinoamericana [Internet]. 2018 [cited 24 February 2020];Available from: <https://www.eumed.net/rev/oel/2018/08/perdidas-economicas-brucelosisbovina.html>
24. Alcaldía de Aguazul-Casanare. Licitación pública acerca de casos de brucelosis en Aguazul-Casanare. Casanare; 2013-2015.
25. Arenas N, Moreno V. Estudio económico de la infección por *Brucella abortus* en ganado bovino en la región del Sumapaz, Cundinamarca. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. 2016;63(3).

Políticas del editorial

Enfoque y alcance.

NOVA es una publicación científica de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca (Colombia), cuyo fin primordial consiste en la difusión de trabajos originales que contribuyen a ampliar los conocimientos en las ciencias biomédicas. Todo material propuesto para publicación en NOVA es revisado por el Comité Editorial y enviado para evaluación externa a dos evaluadores o pares científicos. El editor informa a los autores sobre la recepción de los trabajos, sobre los comentarios de los evaluadores y sobre la decisión final que se tome para su publicación. La revista NOVA se reserva el derecho de aceptar o rechazar los artículos y podrá hacer sugerencias o cambios que tiendan a mejorar su presentación.

Los originales de los artículos permanecerán en los archivos de la revista hasta por un año. El autor principal recibirá, libre de costo, 3 ejemplares de la revista.

NOVA – Publicación Científica en Ciencias Biomédicas está Indexada en:
Índice Latinoamericano – LILACS, de la Plataforma BIREME; Índice Mexicano de Revistas Biomédicas Latinoamericanas -IMBIOMED; Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal – REDALYC; Base de Datos de Revistas Accesibles en Formato Electrónico -FARO de la Universidad y EBSCO Information Services.

Proceso de revisión por pares.

El proceso de evaluación de un manuscrito consta de una preselección y revisión general por el comité editorial seguida de una evaluación doble ciega solicitada a pares especialistas en la materia. Una vez realizada la evaluación por parte del par académico, los autores recibirán el concepto de Aprobado, Aprobado con modificaciones menores, Aprobado con modificaciones mayores ó No aprobado. En aquellos casos en que el manuscrito sea aprobado con modificaciones el autor recibirá también las sugerencias y comentarios realizados por los evaluadores. Los autores contarán máximo con un mes de plazo a partir

de la entrega de las evaluaciones, para hacer los ajustes del caso y enviar la versión corregida del manuscrito de nuevo al editor de la revista, acompañada de una carta explicativa detallada de los ajustes incorporados. El comité editorial verificará la incorporación de los cambios al manuscrito y si lo considera pertinente la enviará de nuevo al par evaluador para su concepto. La decisión final sobre la publicación del manuscrito estará sujeta a la conformidad del par académico y del comité editorial con respecto a la inclusión de las modificaciones solicitadas al autor. En caso de ser aceptado el manuscrito para publicación los autores deberán firmar una declaración de originalidad y una autorización de los derechos de publicación y reproducción del mismo y de la inclusión en bases de datos, páginas web, o páginas electrónicas, nacionales o internacionales.

Frecuencia de publicación.

La Revista NOVA es publicada dos veces al año a partir del 2005.

Política de acceso abierto.

Esta revista proporciona un acceso abierto a su contenido, basado en el principio de que ofrecer al público un acceso libre a las investigaciones ayuda a un mayor intercambio global del conocimiento.

Directrices para autores/as

La revista NOVA, que es una publicación de acceso abierto sin ningún tipo de costo para someter y visualizar artículos, publicará las siguientes categorías de trabajos:

Artículo original: es un trabajo inédito derivado de una investigación biomédica que aporta información nueva sobre aspectos específicos y contribuye de manera relevante al conocimiento científico. La estructura generalmente utilizada contiene cuatro apartes importantes: introducción, metodología, resultados y discusión.

Artículo de revisión: Estudio y análisis crítico de la literatura reciente y pertinente a un tópico especial más los puntos de vista del autor al tema (de modo impersonal). Consiste en un «estado del arte» del tema propuesto, e incluye dos categorías de manuscritos:

- A. solicitado directamente por el Comité Editorial a personas expertas en el tema,
- B. ofrecido por profesionales interesados en un tópico particular, caso en el cual deben observar las siguientes recomendaciones:
- i) Enviar carta de solicitud en la que se indique por qué el tema escogido es pertinente para los lectores de Nova;
 - ii) Proporcionar una breve descripción de los apartes que serían cubiertos, así como algunas referencias claves; además, indicar su probable extensión y el número aproximado de ilustraciones;
 - iii) Si la revisión se acepta para enviarla a evaluación, debe incluir, preferiblemente, un resumen con énfasis en el significado de los hallazgos recientes, una corta introducción al tema, señalando hitos pasados y desarrollos presentes, así como otros encabezamientos en el texto, con el objeto de hacer más provechosa su lectura. El desarrollo del tema queda a discreción del autor pero se aconseja que incluya tablas y figuras que hagan ágil el texto y ofrezcan una comprensión más rápida de su contenido.

Guía académica: es un trabajo enmarcado dentro de los procesos de investigación formativa, proyección social y/o procesos pedagógicos de interés para la comunidad universitaria desarrollados en las instituciones de educación superior, sobre un tema específico, con la participación de docentes y estudiantes.

Comunicación breve: es el informe de resultados parciales o finales de una investigación cuya divulgación rápida es de importancia. Nota: es un trabajo de 1.000 palabras máximo, con un número de figuras y tablas no mayor de 2 y cuyo resumen no debe pasar de 100 palabras. Los métodos, resultados y discusión se presentan agrupados en una única sección.

Nota técnica: es un escrito breve, en el que se describe en detalle una técnica de laboratorio novedosa o modificaciones realizadas a una técnica ya establecida, enfatizando las ventajas que tiene el procedimiento o la innovación desarrollados.

Ensayo: es un escrito breve, filosófico, literario o científico, que presenta la opinión sustentada del autor sobre un tema específico.

Cartas al editor: los lectores solicitan aclaraciones o presentan comentarios sobre cualquier material publicado en la revista. Así como posiciones críticas analíticas o interpretativas

sobre los documentos publicados en la revista, que a juicio del Comité editorial constituyen un aporte importante a la discusión del tema por parte de la comunidad científica de referencia.

Comentarios bibliográficos: son escritos breves, críticos, sobre libros de biomedicina.

Preparación del manuscrito

Cíñase a las indicaciones publicadas por el International Committee of Medical Journal Editors, uniform requirements for Manuscripts submitted to biomedical journals. J pharmacol pharmacother. 2010; 1(1): 42-58 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3142758/>)

La versión en castellano se puede consultar en la revista Acta Médica Colombiana (Acta Med Colomb 1997; 22:199-211) o en <http://www.actamedica.es/>. Cada una de las secciones del manuscrito debe aparecer en una nueva página en el siguiente orden: portadilla, resumen, texto, agradecimientos, referencias, cuadros, pies de figuras y tablas.

Portadilla: además del título del trabajo y del título corto para los encabezamientos de las páginas, debe contener los nombres completos de los autores, su afiliación institucional y el nombre de la institución en donde se llevó a cabo el trabajo. También se debe anotar el nombre del autor responsable de la correspondencia con su dirección completa, número telefónico, fax y dirección electrónica.

Resúmenes y palabras clave: el trabajo debe tener resumen en español y en inglés, cada uno de 250 palabras como máximo. Evite el uso de referencias en los resúmenes. Para la sección de las 6 palabras claves en español, consulte los descriptores de Ciencias de la Salud (DeCS) del Índice de Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud (LILACS) en la última versión publicada en disco compacto o en <http://decs.bvs.br>; para la sección de las 6 palabras clave en inglés, consulte los Medical Subject Headings (MeSH) del Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>).

Texto: todo el documento, incluso la página del título, los resúmenes, las referencias, los cuadros y los pies de figuras, debe estar escrito a doble espacio, por un solo lado de la hoja, sin dejar espacios extras entre párrafo y párrafo; deje un solo espacio después del punto

seguido o aparte. Use la fuente Arial de tamaño 12 puntos y no justifique el texto. Use letra bastardilla o itálica para los términos científicos; por favor, no los subraye. Formato electrónico: envíe medio electrónico del documento en procesador de palabra MS Word, para PC. Incluya las gráficas en formato TIFF o JPG a 300 DPI como mínimo. La fuente preferida para las gráficas es Arial Narrow. Si sus archivos provienen de un computador Apple – Macintosh, conviértalos a plataforma PC. Incluya una lista de los archivos enviados y el programa en que fueron desarrollados.

Los artículos originales deben contener 7 partes básicas, así:

1. *Titulo (en español e inglés). El título en mayúsculas, preciso y sin abreviaturas. Los nombres científicos en latín y en bastardilla. Apellidos y nombres del o de los autores, institución, dirección postal completa, número de fax y correo electrónico del autor responsable para la correspondencia y fecha de envío.*
2. *Resumen (español e inglés). De no más de 250 palabras en español e inglés, debe enunciar las propuestas de la investigación, los procedimientos básicos, los resultados principales y las conclusiones. Se requiere suministrar entre 6 y 10 palabras claves.*
3. *Introducción. Distribuir el contenido según la conveniencia del tema, con subtítulos o apartes.*
4. *Materiales y métodos.*
5. *Resultados.*
6. *Discusión.*
7. *Referencias.*

Agradecimientos:

Dirigidos a personas con aportes que no justifican acreditación como autor, por ayuda técnica recibida, por tipo de apoyo material y financiero.

Referencias:

- Asígnele un número a cada referencia citada, en orden ascendente, incluyendo las del texto, los cuadros y las figuras. Anote los números de las referencias entre paréntesis y no como índice ni subíndice.
- Cuando hay más de una cita, éstas deben separarse mediante comas, pero si fueran correlativas, se menciona la primera y la última separadas por un guión.
- Cuando en el texto se menciona un autor, el número de la referencia se pone tras el

nombre del autor. Si se tratase de un trabajo realizado por más de dos autores, se cita el primero de ellos seguido de la abreviatura “et al” y su número de referencia.

1. Artículo estándar.

Autor/es*. Título del artículo. Abreviatura** internacional de la revista. año; (volumen número): página inicial-final del artículo.

Kolovou G, Daskalova D, Mikhailidis DP. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. Angiology. 2003;54(2): 59-71.

* Si los autores fueran más de seis, se mencionan los seis primeros seguidos de la abreviatura et al.

** Las abreviaturas internacionales pueden consultarse en “Journals Database” de PubMed. Las españolas en el Catálogo C17 (<http://www.c17.net/>) ó bien en el DREV (<http://bvsalud.isciii.es/php/index.php>) de la BVS del Instituto de Salud Carlos III y en la base de datos de Revistas de Biomedicina del IHCD de Valencia. (https://bddoc.csic.es:8180/inicioBuscarSimple.html?estado_formulario=show&bd=IME&tabla=revi).

1.1 Incorporación opcional de número de identificación único de bases de datos en la referencia:

La mayoría de bases de datos o documentos electrónicos incorpora un número de identificaciónívoco en cada referencia (PubMed: PMID; Cochrane Library:CD; DOI), que pueden incorporarse a la referencia bibliográfica para su perfecta identificación.

López-Palop R, Moreu J, Fernández-Vázquez F, Hernández Antolín R; Working Group on Cardiac Catheterization and Interventional Cardiology of the Spanish Society of Cardiology. Registro Español de Hemodinámica y Cardiología Intervencionista. XIII. Informe Oficial de la Sección de Hemodinámica y Cardiología Intervencionista de la Sociedad Española de Cardiología (1990-2003). Rev Esp Cardiol. 2004; 57(11): 1076-89. Citado en PubMed PMID 15544757.

The Cochrane Database of Systematic Reviews 1998, Issue 3 [base de datos en Internet]. Oxford: Update Software Ltd; 1998- [consultado 28 de diciembre de 2005].

Wilt T, Mac Donald R, Ishani A, Rutks I, Stark G. Cernilton for benign prostatic hyperplasia. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD001042.pub2/abstract> ó <http://www.update-software.com/clibplus/clibplus.asp>. Citado en Cochrane Library CD001042.

1.2 Organización o equipo como autor

Grupo de Trabajo de la SEPAR. Normativa sobre el manejo de la hemotisis amenazante. Arch Bronconeumol 1997; 33: 31-40.

2. Libros

Autor/es. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año.

Jiménez L, Montero FJ. Compendio de Medicina de Urgencias: guía terapéutica. 2^a ed. Madrid: Elsevier; 2005.

Nota: La primera edición no es necesario consignarla. La edición siempre se escribe en números arábigos y abreviatura: 2^a ed. Si la obra estuviera compuesta por más de un volumen, citarlo a continuación del título del libro.

2.1 Organización como autor

Comunidad de Madrid. Plan de Salud Mental de la Comunidad de Madrid 2003-2008. Madrid: Comunidad de Madrid, Consejería de Sanidad; 2002.

2.2 Capítulo de libro

Autor/es del capítulo. Título del capítulo. En*: Director/Coordinador/Editor del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año. página inicial-final del capítulo.

Mehta SJ. Dolor abdominal. En: Friedman HH, editor. Manual de Diagnóstico Médico. 5^a ed. Barcelona: Masson; 2004. p.183-90.

3. Comunicación presentada a un congreso

Autor/es de la ponencia. Título de ponencia. En: Título oficial del Congreso. Lugar de Publicación: Editorial; año. página inicial-final de la comunicación/ponencia.

Castro A, Escudero J. El Área del Corazón del Complejo Hospitalario “Juan Canalejo”. En: Libro de Ponencias: V Jornadas de Gestión y Evaluación de Costes Sanitarios. Bilbao; Ministerio de Sanidad y Consumo, Gobierno Vasco; 2000.p. 12-22.

Nota: Esta misma estructura se aplica a Jornadas, Simposios, Reuniones Científicas etc.

4. Informe científico o técnico

Autor/es. Título del informe. Lugar de publicación: Organismos/Agencia editora; año. Número o serie identificativa del informe.

Organización Mundial de la Salud. Factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares: nuevas esferas de investigación. Informe de un Grupo Científico de la OMS. Ginebra: OMS; 1994. Serie de Informes Técnicos: 841.

5. Tesis Doctoral

Autor. Título de la tesis [tesis doctoral]*. Lugar de publicación: Editorial; año.

Muñiz J. Estudio transversal de los factores de riesgo cardiovascular en población infantil del medio rural gallego [tesis doctoral]. Santiago: Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico, Universidad de Santiago; 1996.

6. Patente

Joshi R, Strelbel HP, inventores; Fumapharm AG, titular. Utilización de derivados de ácido fumárico en la medicina de trasplante. Patente Europea. ES 2195609T3. BOPI 1-12-2003.

7. Artículo de revista en Internet

Autor/es del artículo. Título del artículo. Nombre de la revista [revista en Internet]* año [fecha de consulta]**; volumen (número): [Extensión/páginas***]. Dirección electrónica.

Francés I, Barandiarán M, Marcellán T, Moreno L. Estimulación psicocognoscitiva en las demencias. An Sist Sanit Navar [revista en Internet]* 2003 septiembre-diciembre. [acceso 19 de octubre de 2005]; 26(3). Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000500007&lng=en&nrm=iso&tlang=en.

* Puede sustituirse por: [Revista on-line], [Internet], [Revista en línea]

** [acceso....], [consultado...], [citado...]

*** Si constasen.

8. Base de datos en Internet

Institución/Autor. Título [base de datos en Internet]. Lugar de publicación: Editor; Fecha de creación, [fecha de actualización; fecha de consulta]. Dirección electrónica.

PubMed [base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine; 1966-[fecha de acceso 19 de diciembre de 2005]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>

Cuadros y figuras: elabore los cuadros usando la utilidad de tablas del procesador de palabras y no por columnas y tabulados en el texto mismo del manuscrito; envíe los nombres de los archivos. Para las figuras en blanco y negro, envíe el original y dos copias de la ilustración correspondiente acompañadas de su versión en medio magnético en formato tiff o jpg. a 300dpi. como mínimo de resolución y en un tamaño media carta. Gráficas desarrolladas en Exell, favor remitir el archivo original. Si son fotografías en blanco y negro, debe enviar tres copias de excelente calidad junto con la versión en medio magnético, en formato tiff o jpg a 300dpi como mínimo de resolución; si son transparencias, envíe la diapositiva original y no una copia, junto con dos impresiones en papel (fotocopia o escáner, adjuntando copia en medio magnético, formato tiff a 300dpi como mínimo de resolución) de la misma imagen para el envío a los evaluadores del manuscrito. En las preparaciones de microscopio, mencione la coloración y el aumento según el objetivo utilizado.

Lista preliminar para la preparación de envíos.

Como parte del proceso de envíos, los autores/as están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Se devolverán a los autores/as aquellos envíos que no cumplan estas directrices.

1. El envío no ha sido publicado previamente ni se ha sometido a consideración por ninguna otra revista (o se ha proporcionado una explicación al respecto en los *Comentarios al editor/a*).
2. El archivo de envío está en formato OpenOffice, Microsoft Word, RTF o WordPerfect.

3. Siempre que sea posible, se proporcionan direcciones URL para las referencias.
4. El texto tiene un interlineado sencillo, un tamaño fuente de 12 puntos, se utiliza cursiva en lugar de subrayado (excepto en las direcciones URL), y todas las ilustraciones, figuras y tablas se encuentran colocadas en los lugares del texto apropiados, en vez de al final.
5. El texto reúne las condiciones estilísticas y bibliográficas incluidas en Pautas para el autor/a, en Acerca de la revista.
6. En el caso de enviar el texto a la sección de evaluación por pares, se siguen las instrucciones incluidas en Asegurar una evaluación anónima.

Aviso de derechos de autor.

NOVA por <http://www.unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova> se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional.

Así mismo, los autores mantienen sus derechos de propiedad intelectual sobre los artículos.

Declaración de privacidad.

Los nombres y las direcciones de correo electrónico introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines establecidos en ella y no se proporcionarán a terceros o para su uso con otros fines.