

R E V I S T A

cuarzo

Publicación de la Fundación Universitaria Juan N. Corpas

Edición impresa ISSN: 0121-2133 • Edición en línea ISSN: 2500-7181 • Volumen 24 Número 1 • Enero - Junio 2018 • Bogotá - Colombia





FUNDACIÓN UNIVERSITARIA
JUAN N. CORPAS

Educación y Salud de Calidad
con Sentido Social

R E V I S T A

cuarzo

Publicación de la Fundación Universitaria Juan N. Corpas

FUNDACIÓN UNIVERSITARIA JUAN N. CORPAS

RECTORA: Doctora Ana María Piñeros Ricardo

VICERRECTOR ACADÉMICO: Doctor Luis Gabriel Piñeros Ricardo

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO: Doctor Juan David Piñeros Ricardo

DECANO DE MEDICINA: Doctor Jaime García Cadena

DECANA DE ENFERMERÍA: Doctora María Antonina Román Ochoa

REVISTA CUARZO (REC)

EDITOR

LUIS MIGUEL POMBO OSPINA

Ingeniero Químico, Magister en Ciencias Biológicas.

Director del Centro de Investigación, Fundación Universitaria Juan N. Corpas.

COMITÉ EDITORIAL Y CIENTÍFICO

ANDRÉS TOVAR PÉREZ, PH.D.

Associate Professor, School of Engineering and Technology,
Purdue University, Indianapolis.

RENATO ANTONIO GUZMÁN MORENO, MD.

Docente - Investigador, Facultad de Medicina,
Fundación Universitaria Juan N. Corpas.

ERICSSON DAVID COY BARRERA, PH.D.

Docente - Investigador. Departamento de Química,
Universidad Militar Nueva Granada.

JUAN DAVID RAMÍREZ GONZÁLEZ, MSC, PH.D.

Profesor Principal, Universidad del Rosario.

SANDRA PAOLA SANTANDER GONZÁLEZ, PH.D.

Docente- Investigador. Facultad de Medicina,
Fundación Universitaria Juan N. Corpas.

DANIEL ALFONSO BOTERO ROSAS, MD, PH.D.

Docente - Investigador, Universidad de la Sabana.

OSCAR EDUARDO RODRÍGUEZ AGUIRRE, MSC, PH.D.

Docente - Investigador, Universidad el Bosque.

ANÍBAL TEHERÁN VALDERRAMA, MD, MSC,

Epidemiólogo, Universidad del Rosario.

VÍCTOR HUGO FORERO SUPELANO, MD, MSC,

Epidemiólogo, Docente - Investigador,
Fundación Universitaria Juan N. Corpas.

IVÁN ALBERTO MÉNDEZ RODRÍGUEZ, MSC.

Docente - Investigador, Vice-Decano,
Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.

Enfoque y Alcance

La Revista Cuarzo (REC) es la revista científica de la Fundación Universitaria Juan N. Corpas que constituye uno de los órganos informativos de la Institución, su principal propósito es divulgar semestralmente, los resultados originales derivados de proyectos de investigación en áreas de la salud, ciencias básicas y ciencias afines.

Para su publicación, la REC tendrá en cuenta los siguientes tipos de documentos en idioma español o inglés:

- Artículos originales: son trabajos que presentan resultados de investigación que no han sido publicados en otras revistas científicas. Su extensión debe ser máximo de 7000 palabras.
- En el caso de revisiones sistemáticas y meta-análisis deben seguir los lineamientos de la Guía metodológica PRISMA. En el caso de tratarse de investigaciones en un área del conocimiento específico, se deben seguir las normas internacionales oficiales según corresponda (CONSORT, STROBE, STARD, GRADE, etc. Verificar en Lista Guía de comprobación en: www.equatornetwork.org).
- Artículos de revisión: son trabajos en los que el autor, experto en el tema, emplea publicaciones primarias (artículos originales, de revisión, de reflexión, reportes de caso, entre otros), para mostrar el estado actual del conocimiento de un tema específico y realizar un análisis detallado de la información presentada. Debe tener mínimo 50 citas bibliográficas. Su extensión debe ser máximo de 12000 palabras.
- Artículo corto: es un documento en el cual se presentan resultados parciales de un proyecto de investigación, los cuales, debido a su impacto, se considera esencial publicarlos antes de que finalice el proyecto.
- Reporte de caso: escrito en el cual los resultados de una situación en particular aparecen al considerarse nuevos hallazgos, metodologías o terapias asociadas con una revisión crítica y corta del estado del arte de los casos similares presentados a nivel mundial. La REC publicará reporte de casos originales e interesantes que contribuyan al conocimiento médico.

Debe incluir de 6 a 12 citas bibliográficas y en su estructura incluir Abstract (descripción del caso, hallazgos clínicos, tratamiento, resultados y relevancia clínica), introducción, descripción del caso, discusión y referencias. Éstos deben seguir los lineamientos de la Guía metodológica CARE y reunir uno de los siguientes criterios:

- Efectos adversos no declarados, inusuales o interacciones adversas que involucren medicamentos.
- Presentaciones inusuales o no esperadas de una enfermedad.

Nuevas asociaciones o variaciones en la presentación de una enfermedad.

- Presentaciones, diagnóstico y/o manejo de enfermedades nuevas y emergentes.
- Asociación inesperada entre síntomas y enfermedades.
- Un evento inesperado en el curso de la observación o el tratamiento de un paciente.
- Hallazgos que arrojan nueva luz sobre la posible patogénesis de una enfermedad o un efecto adverso.

Proceso Editorial

Los artículos deben ser sometidos a través del sitio Web de la revista (REC), <http://revistas.juanncorpas.edu.co/index.php/cuarzo>, acompañados de una carta dirigida al Editor, firmada por todos los autores, presentando el trabajo y manifestando que no ha sido publicado ni sometido para publicación en otras revistas (descargar formato) y que los autores no tienen conflicto de intereses. Los trabajos recibidos tendrán una primera revisión por parte del Comité Editorial/Científico, quienes tendrán en cuenta parámetros como calidad del trabajo, originalidad, pertinencia y normas de presentación. Los manuscritos preseleccionados serán enviados a revisión por pares externos, expertos en las temáticas abordadas. Los pares contarán con 15 días calendario para evaluar los artículos y la evaluación deberá ser realizada en el formato de evaluación de la Revista (REC), emitiendo conceptos de aprobado sin modificaciones, aprobado con modificaciones (mayores o menores) o rechazado. En caso de que los trabajos requieran ser ajustados, los autores contarán con un tiempo máximo de ocho días calendario para efectuarlos, cambios que deben ser consignados en una carta dirigida al Editor. El proceso de evaluación será doble ciego, los evaluadores no conocerán los nombres de los autores, ni éstos los nombres de los pares evaluadores.

Consideraciones éticas

En sus publicaciones la REC contempla las políticas relacionadas con aspectos éticos que se encuentran en World Association of Medical Editors (WAME) (<http://www.wame.org/about/recommendations-on-publication-ethics-policie>).

Política de acceso abierto

Esta revista proporciona un acceso abierto a su contenido, teniendo en cuenta el principio de que ofrecer al público un acceso libre a las investigaciones ayuda a un mayor intercambio global del conocimiento y no se hace responsable de los contenidos publicados.

Política sobre derechos de autor

Los autores que publican en la revista se acogen al código de licencia creative commons 3.0 de atribución no comercial sin derivados y compartir igual.



La REC se acoge al acuerdo sobre Requisitos Uniformes para Preparar los Manuscritos Enviados a Revistas Biomédicas, elaborado por el Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (<http://www.icmje.org/recommendations/browse/roles-and-responsibilities/defining-the-role-of-authors-and-contributors.html>). Por este motivo todos los manuscritos enviados a la revista son revisados inicialmente por el Comité Editorial con el fin de vigilar que se respeten las normas descritas en el acuerdo y este documento.

Recuerde que para ser considerado como autor de un trabajo es indispensable haber realizado contribuciones sustanciales a su concepción y diseño, al análisis e interpretación de los datos o a la revisión crítica de una parte esencial del contenido intelectual. La “autoría por cortesía” es inaceptable.

El aporte de muestras o reclutamiento de pacientes para una investigación, no constituyen autoría y una mención en los agradecimientos es suficiente para este tipo de contribución.

Antes de someter su trabajo debe tener en cuenta que el manuscrito se encuentre en formato Microsoft Word, tipo de letra Times New Roman tamaño 12, interlineado 1.5, con numeración de cada línea del texto.

Los artículos deben ser sometidos a través del sitio Web de la revista (REC), <http://revistas.juanncorpas.edu.co/index.php/cuarzo>, en caso de presentar alguna dificultad los manuscritos deben ser enviados al correo electrónico: cuarzo@juanncorpas.edu.co en el formato solicitado.

Los trabajos originales deben seguir la siguiente secuencia:

Página titular

Debe incluir:

- El título del trabajo con un máximo de 100 caracteres, centrado, en negrilla y en español e inglés.
- Nombres y apellidos del autor y los colaboradores, utilizar superíndices numéricos para hacer las filiaciones de cada autor, estas deben incluir títulos académicos y el nombre de la institución a la que pertenece cada uno.
- Se deben especificar las fuentes de ayuda bien sea en forma de subvenciones, equipos o medicamentos, para la realización del trabajo, al igual que la declaración de cualquier conflicto de interés por parte de los autores, sobre todo en el caso de trabajos auspiciados por la industria privada.
- Autor de correspondencia y dirección electrónica.
- Nombres y direcciones electrónicas de dos (2) posibles pares evaluadores postulados por los autores que podrían ser o no ser considerados por el Comité Editorial.

Resumen y Abstract

Describe de manera breve y estructurada el trabajo, no exceder de 350 palabras.

Palabras clave

Máximo cinco en español e inglés, deben ser términos MeSH o DeCS.

Texto del trabajo

Introducción: Se recomienda incluir los antecedentes más importantes del tema estudiado, describe la situación actual, el conocimiento del problema y la pertinencia del trabajo, así como también plantea el propósito del estudio.

Materiales y Métodos: Describe el tipo y el diseño del estudio, población estudiada, variable resultado y variable secundaria, plan de recolección de datos, plan de análisis y consideraciones éticas. Dependiendo del tipo de estudio, se deben incluir los materiales y reactivos empleados para el desarrollo del trabajo. Cuando se informe sobre experimentos en humanos y animales, es indispensable tener la aprobación del Comité de Ética de la Institución en donde se realizó el estudio y estar de acuerdo con la Declaración de Helsinki de 2000, Ley 84 de 1989 y Resolución 8430 de 1993. No se mencionará nombre de pacientes, sus iniciales, número de historia clínica ni cualquier otro dato que permita su identificación.

Resultados: Corresponden a los hallazgos más importantes de la investigación, deben ser coherentes con los objetivos planteados. En éste apartado, únicamente se presentarán los resultados y no el análisis de los mismos.

Discusión: Debe presentarse como una sección independiente, incluye un análisis en el que se relacionen los resultados obtenidos con el marco conceptual existente.

Conclusiones: Mencionar las ideas finales más relevantes obtenidas a partir de los resultados y la discusión.

Agradecimientos: es importante escribir aquí los agradecimientos a las instituciones que financian los trabajos y a las personas que contribuyeron en la realización de su investigación.

Referencias Bibliográficas: en el texto, deben presentarse numeradas en orden de aparición, y las referencias completas se ubican al final del manuscrito en estilo Vancouver (<http://www.fisterra.com/herramientas/recursos/vancouver/>).

Tablas: deben estar incluidas en el texto, numeradas en orden de aparición y con sus respectivos pie de tabla, no deben incluir líneas horizontales ni verticales.

Figuras: se presentarán como archivos jpg, gif o tiff con 300 dpi (figuras sencillas o gráficas) y 600 dpi (imágenes o fotografías). Adicionalmente, se debe realizar una lista de figuras que incluya: el número de la figura, el título y la leyenda.

Nombres científicos: los nombres científicos de plantas, animales, insectos, parásitos, virus y bacterias se deben escribir de acuerdo al sistema binomial de género y especie, siguiendo los códigos de nomenclatura botánica y zoológica. Debe ir en letra cursiva, el género con la primera letra en mayúscula y la especie en minúsculas. Ejemplos: *Caesalpinia spinosa*, *Staphylococcus aureus*.

Sistema de medidas: se debe emplear el Sistema Internacional de Unidades (SI).

Ecuaciones: las expresiones matemáticas y fórmulas deben ser estructuradas con el editor de ecuaciones del editor de texto Microsoft Word; serán enumeradas con números arábigos entre paréntesis, número que será el identificador de la ecuación en el texto.

Abreviaturas: es la representación gráfica reducida de una palabra o grupo de palabras, obtenida por eliminación de algunas de las letras o sílabas finales o centrales de su escritura completa, y que siempre se cierra con un punto.

Se deben definir cuando aparezcan por primera vez en el texto, entre paréntesis, salvo si se trata de unidades de medida común.

Antes de enviar su manuscrito tenga en cuenta la siguiente lista de verificación:

- Es un artículo original*
 - El manuscrito no ha sido sometido ni publicado en otra revista*
 - Los autores cumplen con las normas internacionales de autoría*
 - Se ajusta al formato de la REC*
 - Se realizó la carta de presentación del manuscrito*
 - Se realizó la carta al Editor*
-

La Revista Cuarzo, es la revista científica de la Fundación Universitaria Juan N. Corpas que constituye uno de los órganos informativos de la Institución.

Título abreviado: rev cuarzo (En línea)

Edición impresa ISSN: 0121-2133

Edición en línea ISSN: 2500-7181

Editado en Bogotá, D.C., Colombia.

La correspondencia dirigida a la Revista Cuarzo debe ser enviada a la Fundación Universitaria Juan N. Corpas, Carrera 111 No. 159A-61 Suba, Bogotá, Colombia; teléfonos: 6622222 ext. 244. Correo electrónico: miguel.pombo@juanncorpas.edu.co, sitio web: <http://revistas.juanncorpas.edu.co/index.php/cuarzo/index>

Artículos originales

- Análisis estocástico de un sistema génico simple para la síntesis de una proteína implementando los Métodos de Gillespie.....7
Diana Carolina Clavijo Buriticá , Bárbara Valeria Mejía, Lina María Rojas, Hector Leandro Sáenz Castro.
- Evaluación de extractos vegetales para manejo de quemaduras caústicas: Irritación/Corrosión dérmica aguda. Bogotá, 2018.....17
María Claudia Barrera Céspedes, Luis Miguel Pombo Ospina, Juan Carlos Mancipe Vargas, Andrés Mauricio Duarte Hernández, John Fredy Hernández Montaño, Oscar Eduardo Rodríguez Aguirre, Sandra Paola Santander González, Antonio Luis Mejía Piñeros, German Rodrigo Núñez Jején, María Camila Lagos Madero, Laura Stephania Guerreo Fajardo, Angie Karolyne González Alarcón, Laura Alejandra Londoño Valero, Laura del Mar Lozada Cruz.

Artículo de Revisión

- Vildagliptina en pacientes diabéticos tipo 2 con riesgo cardiovascular o compromiso renal. Revisión de literatura.....28
Victor Hugo Forero Supelano, Gabriel German Ribón Quintero, Jairo Echeverry-Raad.

Reporte de caso

- Síndrome febril prolongado de origen reumatológico. Reporte de tres casos.....46
Renato Antonio Guzmán, María Camila Mejía, Vanessa Cadavid, María Claudia Barrera.

Análisis Estocástico de Un Sistema Génico Simple para la Síntesis de una Proteína Implementando los Métodos de Gillespie

Diana Carolina Clavijo Buritica^{1,2}, Bárbara Valeria Mejía³, Lina María Rojas³, Leandro Sáenz Castro²

¹ Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

² Facultad de Medicina, Fundación Universitaria Juan N. Corpas. Bogotá, Colombia.

³ Departamento de Ingeniería Química, Universidad de los Andes. Bogotá, Colombia.

Resumen

En la mayoría de los casos en los que se requiere describir una red biológica se propone un sistema de ecuaciones diferenciales acopladas, que luego se resuelve por métodos numéricos. Sin embargo, cuando un solo valor en estado estacionario no predice el comportamiento de la población total, es indispensable que el modelo de representación describa la distribución de estados dentro un sistema. El algoritmo propuesto por Gillespie en 1998 consiste en la descripción de un fenómeno específico mediante herramientas estocásticas, en donde se predice el comportamiento de la ecuación maestra de probabilidades mediante la simulación de Montecarlo. El autor propone dos aproximaciones matemáticas para la resolución: el método de la primera reacción, y el método directo. El propósito de esta investigación fue a partir de un modelo génico simple para la síntesis de una proteína, representado en una red de Petri simple propuesta por Goss y Peccoud en 1998, comparar los resultados de dichas aproximaciones centrándose en las diferencias entre los resultados al analizar la red mediante un método determinístico clásico, y los dos métodos estocásticos de Gillespie. Finalmente realizar un análisis de sensibilidad al modelo estocástico con la prueba de hipótesis nula. Los resultados obtenidos muestran que efectivamente la población no se comporta uniformemente, por lo que es pertinente y recomendable la resolución por el método de Gillespie para este sistema y para sistemas similares; adicionalmente se corrobora que el método directo es más demandante computacionalmente y con la prueba de hipótesis nula se concluye que el número de proteínas final si se ve afectado por las variaciones en los parámetros cinéticos.

Palabras Clave: Modelos determinísticos, modelos estocásticos, método de la primera reacción, método directo

Autor de correspondencia:
Diana Clavijo
diana.calvijo@juanncorpas.edu.co

Como citar: Clavijo DC, Mejía BV, Rojas LM, Sáenz HL. Análisis Estocástico de Un Sistema Génico Simple para la Síntesis de una Proteína Implementando los Métodos de Gillespie. Revista Cuarzo 2018;24 (1) 7-16.

Recibido: 20 de abril de 2018
Aceptado: 5 de junio de 2018
Publicado: 30 de junio de 2018

Stochastic Analysis of a Simple Gene System for the Synthesis of a Protein Using the Gillespie Methods

Abstract

In most cases where it is required to describe a biological network, a system of coupled differential equations is proposed, which is then solved by numerical methods. However, when a single value in a steady state does not predict the behavior of the total population, it is essential that the representation model describes the distribution of states within a system. The algorithm proposed by Gillespie in 1998 consists of the description of a specific phenomenon using stochastic tools, where the behavior of the master probability equation is predicted by means of the Monte Carlo simulation. The author proposes two mathematical approaches to resolution: the first reaction method and the direct method. The purpose of this research was to compare the results of these approaches by focusing on the differences between the results when analyzing the network using a classical deterministic method and the two stochastic methods of Gillespie, using a simple gene model for protein synthesis, represented in a Petri simple network proposed by Goss and Peccoud in 1998. Finally, perform a sensitivity analysis to the stochastic model with the null hypothesis test. The results obtained show that the population does not behave uniformly, so it is pertinent and recommendable to use the Gillespie method for this system and similar systems; additionally, it is corroborated that the direct method is more computationally demanding, and the null hypothesis test concludes that the final number of proteins if affected by variations in kinetic parameters.

Keywords: Deterministic models, stochastic models, first reaction method, direct method

Licencia creative commons



Introducción

Con el advenimiento de las metodologías de alto rendimiento y métodos computacionales robustos, la realidad de estudiar procesos celulares a nivel de sistemas es más viable hoy en día. A medida que estos enfoques producen un gran conjunto de datos, los análisis a nivel de sistemas biológicos se están centrando en otros campos de la ciencia como la ingeniería, las matemáticas, la adaptación de enfoques computacionales y estadísticos para descifrar las relaciones entre las moléculas por medio de modelación predictiva (1,2). Es así como uno de los objetivos de la Biología de Sistemas es predecir el comportamiento dinámico de las redes genéticas y metabólicas de la célula (3).

Tradicionalmente los eventos dinámicos transcripcionales y traduccionales han sido estudiados y representados por ecuaciones diferenciales determinísticas y continuas, lo cual es válido cuando el comportamiento individual de las células es similar al comportamiento de la población (3). Sin embargo, el comportamiento dinámico de estos eventos es intrínsecamente estocástico, conduciendo a una variabilidad celular y que pueden ser estudiados con un método formal como son las redes de Petri estocásticas (SNPs) (4).

A través de los modelos determinísticos se puede describir el comportamiento dinámico de las redes biológicas y por su parte los modelos estocásticos pueden predecir fielmente la distribución de la población en estado estable (5).

Los modelos estocásticos, se basan en la probabilidad de sucesos discretos, los cuales pueden ser representados gráficamente y matemáticamente en redes de Petri y solucionarse mediante algoritmos como los establecidos por Gillespie que involucran el método de Montecarlo para su resolución (1,6). Sin embargo, las simulaciones estocásticas son computacionalmente más costosas. Para un sistema bien mezclado de volumen infinito (número de partículas infinitas), las fluctuaciones tienden a cero y el proceso aleatorio es bien aproximado por un modelo macroscópico determinista, mientras que, para sistemas no lineales, las fluctuaciones aleatorias pueden ser importantes (7).

Los algoritmos para el desarrollo de modelos estocásticos propuestos por Gillespie, se dividen en dos métodos matemáticos con formulaciones diferentes pero equivalentes, conocidos como el método de la primera reacción y el método directo, que se enmarcan en una función de densidad que determina la probabilidad de ocurrencia de un evento o reacción (8).

Las aproximaciones de Gillespie se pueden resumir en los siguientes pasos:

1. *Inicialización*: Inicializa el número de moléculas en el sistema, reacciones, constantes y generación de números aleatorios.
2. *Pasos de Monte Carlo*: Genera números aleatorios para determinar cuál es la siguiente reacción que ocurre, así

como el intervalo de tiempo. La probabilidad de escoger una reacción dada es proporcional al número de moléculas de sustrato.

3. *Actualización*: Incrementa el tiempo en un paso por la generación aleatoria de tiempo en el paso 2. Actualiza el conteo de moléculas basado en las reacciones ocurridas.
4. *Iteración*: Regresa al paso 2 a menos que el número de reactivos sea cero o el tiempo de simulación se haya excedido.

En detalle el método se describe a continuación en la ecuación a:

$$(a) \quad P(\tau, \mu) = h_{\mu} * c_{\mu} \exp(-\sum_{\mu=1}^M h_{\mu} * c_{\mu} * \tau)$$

Donde $P(\tau, \mu)$ es la probabilidad en un tiempo t de que la siguiente reacción ocurra en un intervalo de tiempo $(t + \tau, t + \tau + d)$ y que esta reacción sea R_{μ} . τ es el tiempo estocástico. c_{μ} es una constante estocástica de reacción para cada reacción R_{μ} , que al ser multiplicado por h_{μ} que es el número de posibles combinaciones de R_{μ} genera la probabilidad a_{μ} de que R_{μ} se lleve a cabo, así:

$$(b) \quad a_{\mu} = h_{\mu} * c_{\mu}$$

reemplazando la ecuación (b) en la ecuación (a):

$$(c) \quad P(\tau, \mu) = a_{\mu} \exp(-\sum_{\mu=1}^M a_{\mu} * \tau)$$

El método directo y el de la primera reacción, se diferencian principalmente en la forma de determinar la probabilidad $P(\tau, \mu)$; ambos métodos son rigurosos y exactos, sin embargo, cuando el número de reacciones M es mayor a tres, el método directo es un poco más eficiente (8).

$$(d) \quad P(\tau, \mu) = P_1(\tau) * P_2(\mu/\tau)$$

De la ecuación principal que describe del método directo (ecuación d) se puede deducir que éste método genera en primera instancia un valor aleatorio τ (primer número aleatorio r_1) según $P_1(\tau)$ y posteriormente un número entero aleatorio μ (segundo número aleatorio r_2) según $P_2(\mu/\tau)$; el tiempo estocástico τ se calcula de acuerdo a la ecuación (e) y el segundo número aleatorio de distribución uniforme r_2 , determina cual reacción se llevará a cabo de acuerdo a la ecuación (f) (8):

$$(e) \quad \tau = \ln\left(\frac{1}{r_1}\right) * \left(\frac{1}{a_{\mu}}\right)$$

$$(f) \quad a_{\mu} * r_2$$

Por otro lado, el método de la primera reacción calcula el tiempo estocástico τ de acuerdo a la ecuación (g), donde r_1 es un número aleatorio de distribución uniforme. Los algoritmos completos para ambos métodos se describen con mayor exactitud en la sección de Materiales y Métodos.

$$(g) \quad \tau = \ln\left(\frac{1}{r_1}\right) * \left(\frac{1}{a_{\mu}}\right)$$

Las fluctuaciones aleatorias en la transcripción y traducción pueden llevar a estallidos temporales en el nivel de proteínas, asociado con una distribución no Poisson del número de moléculas y característica de correlaciones temporales. En general, las fluctuaciones aleatorias en sistemas vivos consisten de dos contribuciones: variación extrínseca debido a influencias por otros sistemas y variación intrínseca derivados de la dinámica aleatoria en el propio sistema (7).

Este trabajo se centra en evaluar un modelo de una red génica simple para la síntesis de una proteína, analizando la red de Petri producto del trabajo de Goss y Peccoud en 1998 (Figura 1, (1)). El modelo se analizó desde el punto de vista estocástico por el método de la primera reacción y el método directo de Gillespie, adicionalmente se analizó desde el punto de vista determinístico y se comparó el comportamiento dinámico con cada una de estas aproximaciones.

Materiales y Métodos

El planteamiento tanto del modelo biológico, como de los modelos matemáticos (determinístico y estocástico), se realizó de acuerdo con la red de Petri propuesta por Goss y Peccoud en 1998 (1), plasmada en su trabajo “Quantitative modeling of stochastic systems in molecular biology by using stochastic Petri nets”.

Modelo Biológico

En la Figura 1 se esquematiza por medio de una red de Petri el modelo génico simple para la síntesis de una proteína.

En este modelo se contempla un gen inactivo (P_1) que por medio de una tasa de activación (λ) cambia el gen en estado inactivo a su estado activo (P_2); el gen activo (P_2) puede volver a su estado inactivo contemplando su tasa de inactivación (μ), estos dos procesos de activación-inactivación del gen son representados por las reacciones de las ecuaciones 1 y 2 respectivamente.

Reacciones del modelo donde $P_1=Gen\ inactivo$, $P_2=Gen\ activo$, $P_3=Proteína$

1. $P_1 \rightarrow P_2$
2. $P_2 \xrightarrow{\lambda} P_3$
3. $P_2 \xrightarrow{\mu} P_1$
4. $P_3 \xrightarrow{\sigma} Degra$

Inactive Gene

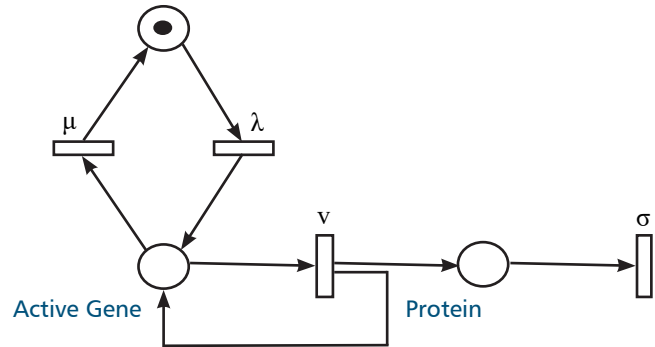


Figura 1. Representación de un modelo génico simple, tipo Red de Petri para la síntesis de una proteína (Goss y Peccoud, 1998).

El gen activo (P_2) sintetiza la proteína (P_3) con una tasa de síntesis (v). El gen activo se considera simultáneamente tanto como una entrada y como una salida para la síntesis (v), ya que se requiere para la síntesis, pero no es consumido, actuando efectivamente como un catalizador. Para la proteína P_3 se asume una tasa de degradación (σ), representada por la reacción de la ecuación 4. Los valores para los parámetros que se asumen en este modelo se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Constantes de velocidad para el modelo génico simple para la síntesis de una proteína.

Descripción	Parámetro	Constante
Tasa de Activación del Gen (P_1)	λ	$1.0\ s_1$
Tasa de Inactivación del Gen (P_2)	μ	$5.0\ s_1$
Tasa de Síntesis de la Proteína (P_3)	v	$1.0\ s_1$
Tasa de degradación de la Proteína	δ	$0.02\ s_1$

Modelo Determinístico

Tomando como base el modelo biológico de la red génica simple para la síntesis de una proteína (Figura 1), las tasas de los parámetros correspondientes a cada una de las reacciones implicadas en el modelo (Tabla 1) y las condiciones iniciales (número de moléculas) para cada especie de la red (Tabla 2), se planteó el sistema de ecuaciones diferenciales que representan la interacciones entre las especies (Ver ecuaciones 5 a 7).

$$5. \quad \frac{dP_1}{dt} = -\lambda P_1 + \mu P_2$$

$$6. \quad \frac{dP_2}{dt} = \lambda P_1 - \mu P_2$$

$$7. \quad \frac{dP_3}{dt} = v P_2 - \sigma P_3$$

Para este modelo se asumió una cinética relativa a las ecuaciones de velocidad para las tres reacciones anteriores, que describen el sistema bajo los parámetros que asume la ley de acción de masas para todas las especies de la red en equilibrio dinámico. El balance de materia que considera la diferencia entre las reacciones de generación o producción de la especie y las reacciones de consumo de esta en la red fue considerado para todas las especies.

Tabla 2. Condiciones iniciales de las especies del modelo génico simple para la síntesis de una proteína.

Descripción	Especie (componente)	Concentración Inicial (moléculas)
Gen Inactivo	P ₁	1
Gen Activo	P ₂	0
Proteína	P ₃	0

Posterior al planteamiento matemático del sistema, fueron obtenidos los perfiles de concentración mediante la función ode45 para solución numérica de ecuaciones diferenciales de cada una de las especies del modelo, implementada en Matlab® (Versión R-2011a). Se varió el tiempo de ejecución con $t=10$ y $t=100$. Posteriormente los valores de las constantes fueron variados para tener una medida de la dependencia del sistema a diferentes variables.

Modelo Estocástico

Método de la Primera Reacción

Para la implementación de este método se siguió el siguiente algoritmo:

1. Determinación de las condiciones iniciales de los parámetros (Tabla 2) y de las Constantes cinéticas (Tabla 1) en $t=0$.
2. Cálculo de a_{μ} (ecuación b) para cada uno de los eventos (reacciones R_{μ}) que depende del tipo de reacción. Para este modelo se asumen en su totalidad reacciones monomoleculares por lo tanto se asume el valor de c_{μ} igual al de la constante cinética determinada para cada reacción.
3. Cálculo de τ (tiempo estocástico) para cada una de las reacciones. Para esto se determina un número aleatorio de distribución uniforme r_1 .
4. Selección del evento (Reacción) de menor tiempo.
5. Ejecución de la reacción de menor tiempo
6. Actualización del tiempo τ (el tiempo es incrementado en τ)

7. Actualización del inventario de moléculas.
8. Repetición de los pasos 1 a 7 hasta alcanzar el tiempo de simulación final ($\tau_{\text{Acumulado}} > \tau_{\text{Final}}$)

El algoritmo anterior fue planteado y resuelto en Matlab® (Versión R-2011a).

Método Directo

Para la implementación de este método se siguió el siguiente algoritmo:

1. Cálculo de a_{μ} para cada uno de los eventos (reacciones R_{μ}), teniendo en cuenta las condiciones iniciales de los parámetros (Tabla 2) y las constantes cinéticas del modelo (Tabla 1)
2. Cálculo del a_T ($\sum a_{\mu}$ para cada una de las reacciones)
3. Se determina un número aleatorio de distribución uniforme r_1 y se calcula el tiempo τ (tiempo estocástico) para cada una de las reacciones (R_{μ}) mediante la siguiente expresión: $\tau = \frac{1}{a_T} \ln\left(\frac{1}{r_1}\right)$
4. Se genera un número aleatorio de distribución uniforme r_2 que esté entre $[0,1]$
5. Divido cada uno de los a_{μ} entre a_T y con r_2 evalúo en qué evento estoy. $\frac{a_{\mu-1}}{a_T} < r_2 \leq \frac{a_{\mu}}{a_T}$
6. Se ejecuta con el tiempo conocido τ y el evento conocido (calculado en el paso 5)
7. Se realiza inventario
8. Calcular el tiempo acumulado
9. Repetición de todos los pasos, a partir del paso 1 hasta que $\tau_{\text{Acumulado}} > \tau_{\text{Definido}}$

El algoritmo anterior fue planteado y resuelto en Matlab® (Versión R-2011a).

Análisis de Sensibilidad

Para llevar a cabo el análisis de sensibilidad, se variaron los valores de las constantes cinéticas un valor por encima y uno por debajo de los valores iniciales que se muestran en la Tabla 1. Este análisis se llevó a cabo para los tres métodos evaluados en este trabajo. Los valores empleados en el análisis de sensibilidad para la aproximación determinística y las dos aproximaciones estocásticas se especifican en la Tabla 7.

Para determinar si el efecto del parámetro sobre la media fue significativo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) empleando el software RStudio versión 3.1.0 de 2014. Se evaluó la

significancia estadística “p” bajo la hipótesis nula H_0 , con el fin de encontrar una diferencia entre los valores de la media de la proteína al variar las constantes cinéticas. Se utilizaron los 1000 valores medios en $t=100$ segundos obtenidos de los ciclos de ejecución del algoritmo para cada uno de los métodos estocásticos evaluados en este trabajo.

Resultados y Discusión

Cinética Determinística

Los resultados obtenidos a partir de la aproximación determinística del modelo, la cual está basada en la ley de acción de masas y que describe el sistema biológico con una gran cantidad de moléculas, donde las condiciones iniciales fijan el comportamiento del sistema se pueden evidenciar en la Figura 2. Al ser ejecutada la simulación a un tiempo $t=10$ segundos (figura 2-A) el aumento de la concentración de proteína (línea rosa) empieza a incrementar proporcionalmente con respecto al consumo del gen inactivo (línea azul) y por ende a la aparición del gen activo (línea morada), el cual iniciará el proceso de transcripción y traducción. A medida que se aumenta el tiempo de ejecución hasta $t=100$ segundos (figura 2-B), el comportamiento exponencial de la concentración de proteína se evidencia claramente. Los resultados arrojados son congruentes con el proceso biológico que enmarca la síntesis de proteínas.

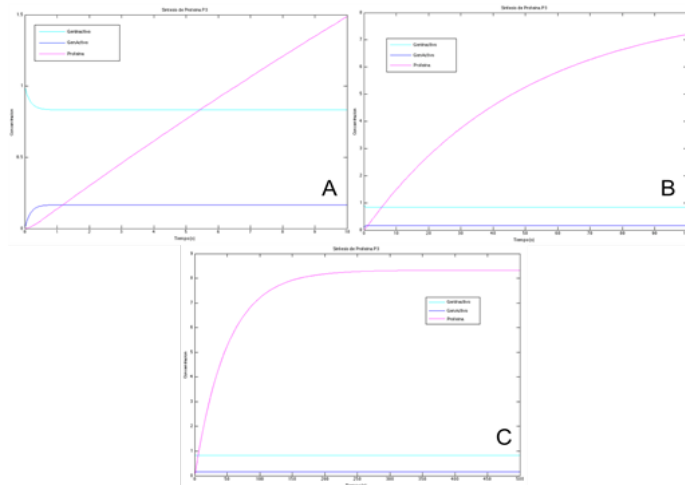


Figura 2. Modelo Determinístico de la red génica simple para la síntesis de una proteína. Perfil de concentraciones para P1, P2 y P3 a un tiempo A) $t = 10$ s en 0.919770s de simulación y B) $t = 100$ s en 1.017851 s. de simulación. C) $t = 500$ s en 1.88 s. La línea azul representa el gen inactivo, la línea morada el gen activo y la línea rosa representa la proteína. En el eje X se representa el tiempo en segundos y en el eje Y la concentración en número de moléculas.

En la figura 2C se evidencia como el sistema alcanza el estado estacionario a un tiempo aproximado de $t=200$ segundos, tardándose en resolver 1.88 segundos y donde la proteína alcanza un valor máximo de concentración de 8.3330 moléculas.

Vale aclarar que en la aproximación determinista de este modelo se ignora la variabilidad del sistema y la heterogeneidad que se presenta al analizar varias poblaciones celulares, razón por

la cual la simulación representa el comportamiento promedio de una sola célula. El modelo determinístico entonces, describe la variación neta de las especies (genes, mRNAs, proteínas) en el tiempo mediante un sistema de ecuaciones diferenciales. Éste modelo es una aproximación global que suele emplearse en sistemas con gran cantidad (altas concentraciones) de moléculas, en los que detallar cada uno de los eventos celulares que se llevan a cabo dentro de un organismo resulta en una alta demanda computacional, es así, como se considera que éste tipo de modelos son de carácter macroscópico, en los cuales no se detallan todos los eventos celulares característicos que ocurren bajo condiciones naturales (9). En general los resultados obtenidos por medio de esta aproximación determinística muestran el comportamiento global del modelo génico simple para la síntesis de una proteína.

Cinética Estocástica

El método de la primera reacción y el método directo, son dos métodos utilizados para representar una cinética estocástica, la cual se caracteriza por describir sistemas biológicos con baja concentración de especies, en donde las condiciones iniciales no fijan el comportamiento del sistema; es decir, para cada simulación que se realiza se obtiene un comportamiento diferente al ser una solución de la ecuación maestra en la que se utiliza el método de Montecarlo, donde cualquier número puede tener la probabilidad de salir en la generación de números aleatorios, además de ser procesos sin memoria. A continuación, se presentan los resultados y análisis de estos obtenidos con cada una de las aproximaciones evaluadas.

Método de la Primera Reacción

El modelo fue evaluado a 10, 100, y 1000 ciclos de ejecución del algoritmo planteado anteriormente para el método de la primera reacción y a 10 y 100 unidades de tiempo.

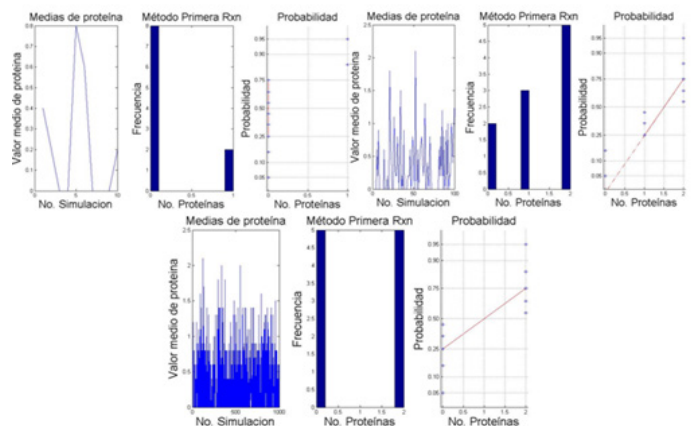


Figura 3. Valor Medio de la Proteína, Frecuencia y Probabilidad del Modelo Estocástico por el método de la Primera Reacción de la red génica simple para la síntesis de una proteína en tiempo $t=10$ segundos variando el número de ejecuciones del algoritmo de 10 (panel superior izquierdo), 100 (panel superior derecho) y 1000 (panel inferior).

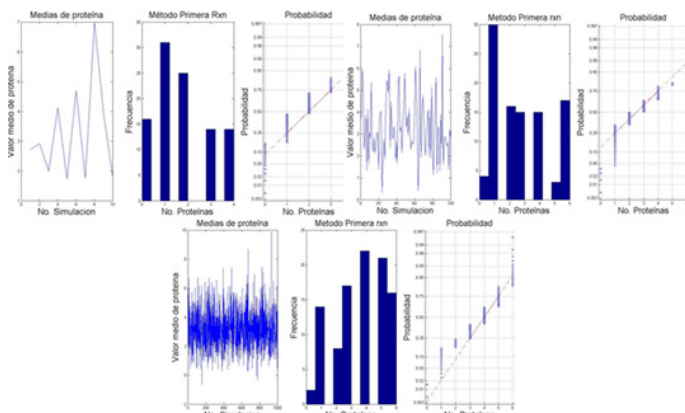
Fueron construidos los histogramas que reflejan los resultados obtenidos para la concentración de proteína en cada ciclo de ejecución (Figura 3 y 4). Los resultados de tiempo de simulación, media y desviación estándar obtenidos a partir de los datos de cada ciclo de ejecución se muestran en las tablas 3 y 4.

Al realizar los 10, 100 y 1000 ciclos de ejecución del algoritmo a un tiempo $t=10$ segundos (Figura 3) se observa claramente que el tiempo del ensayo no es suficiente para que la distribución del comportamiento del sistema se estabilice. Lo que se evidencia adicionalmente en el hecho que en la repetición de cada ciclo de ejecución las frecuencias y las probabilidades varían considerablemente. También cabe notar que el número medio de proteínas para los tiempos de 10 segundos y 100 segundos, difieren notablemente puesto que a medida que aumenta el tiempo de ensayo se tiene mayor probabilidad de aumento de la concentración de la proteína si no se ha llegado al estado estacionario, mostrando de esta manera que a medida que aumenta el número de ciclos de ejecución del algoritmo (emulando un aumento en la población celular) se genera un incremento en la estocasticidad del sistema. Por lo cual se concluye que la probabilidad de encontrar la proteína P3 en el tiempo $t=10$ segundos es muy baja (Tabla 3).

Tabla 3. Último valor de la Media, Desviación y Varianza para la producción de proteína en $t=10$ segundos a diferentes ciclos de ejecución del algoritmo asociado a la figura 3.

Ciclos de ejecución del algoritmo	Tiempo de Simulación	Media	Desviación
10	0.18771 s	0.2	0.4216
100	0.193840 s	1.3	0.8233
1000	1.488001 s	1.0	1.0541

Figura 4. Valor Medio de la Proteína, Frecuencia y Probabilidad del Modelo Estocástico por el método de la Primera Reacción de la red génica simple para la síntesis de una proteína en tiempo $t=100$ segundos variando el número de ciclos de ejecución del algoritmo de 10 (panel superior izquierdo), 100 (panel superior derecho) y 1000 (panel inferior).



Al incrementar el tiempo de simulación a $t=100$ segundos y llevar a cabo el mismo número de ciclos de ejecución del algoritmo planteado para el método de la primera reacción (Figura 4), la concentración de proteína reflejada en los histogramas muestra un comportamiento característico que emula el comportamiento propio de los sistemas biológicos, lo cual también se evidencia en las gráficas de probabilidad. Básicamente podemos afirmar que aun mayor tiempo de simulación y un mayor número de ciclos de ejecución del algoritmo se obtiene una mejor descripción del comportamiento del sistema.

Tabla 4. Último valor de la Media, Desviación para la producción de proteína en $t=100$ segundos a diferentes ciclos de ejecución del algoritmo, asociado a la figura 4.

Ciclos de ejecución del algoritmo	Tiempo de Simulación	Media	Desviación
10	0.039207 s	4,7	2,0913
100	0.242058 s	6,85	3,3586
1000	10.229929 s	3,39	1,786

De acuerdo con el análisis de los resultados que relacionan el valor medio de la proteína con el número de simulación (figuras 3 y 4) obtenidos empleando el método de la primera reacción y comparándolos con los resultados del método determinístico, se puede confirmar que la descripción del sistema mediante un sistema de ecuaciones diferenciales (método determinista) no representaría adecuadamente el comportamiento de la red, mientras que los resultados arrojados por el método estocástico de la primera reacción muestran en general una distribución de probabilidad que se acerca más al proceso biológico presente en la naturaleza.

Lo anterior está relacionado con una característica importante de los modelos de este tipo, la cual supone que el sistema de ecuaciones es continuo y determinístico, lo cual no se cumple en ningún fenómeno biológico, si se considera que la estocasticidad inherente en la naturaleza puede producir efectos no determinísticos importantes. En contraste, cuando el enfoque estocástico genera números aleatorios está considerando el comportamiento de cada molécula individual y a su vez las interacciones discretas que ocurren entre estas, por lo cual los modelos de Gillespie se ajustan mejor a la realidad en este y en la mayoría de los sistemas biológicos, confirmando nuevamente que nuestro modelo determinístico consigue predecir la cantidad final de proteína pero no es capaz de indicar los cambios de tendencia en el tiempo, lo cual está apoyado en el trabajo de Pahle en 2009 (10).

Método Directo

Bajo esta aproximación el modelo también fue evaluado a 10, 100, y 1000 ciclos de ejecución del algoritmo planteado anteriormente para el método directo y a 10 y 100 unidades de tiempo. Los histogramas que reflejan los resultados obtenidos para la

concentración de la proteína fueron construidos para cada ejecución del algoritmo (Figura 5 y 6). Los resultados de tiempo de simulación, media y desviación estándar obtenidos a partir de los datos de cada ciclo de ejecución del algoritmo se muestran en las tablas 5 y 6.

Tabla 5. Valores asociados a la figura 5. para el último valor de la Media, Desviación y Varianza de la producción de proteína en $t=10$ segundos a diferentes ciclos de ejecución del algoritmo.

Ciclos de ejecución del algoritmo	Tiempo de Simulación	Media	Desviación
10	0.052608	0.9	1.1005
100	0.406881	0.56	0.8204
1000	4.2368	0.518	0.7472

Para las simulaciones de 100 y 1000 iteraciones con ciclos de ejecución del algoritmo en un tiempo $t=100$ segundos cada una, (panel intermedio e inferior Figura 6) se puede observar que se logra reproducir el fenómeno de regulación biológica, pues los histogramas adquieren una forma de distribución característica presente en la mayoría de los fenómenos biológicos de expresión génica presentes en la naturaleza.

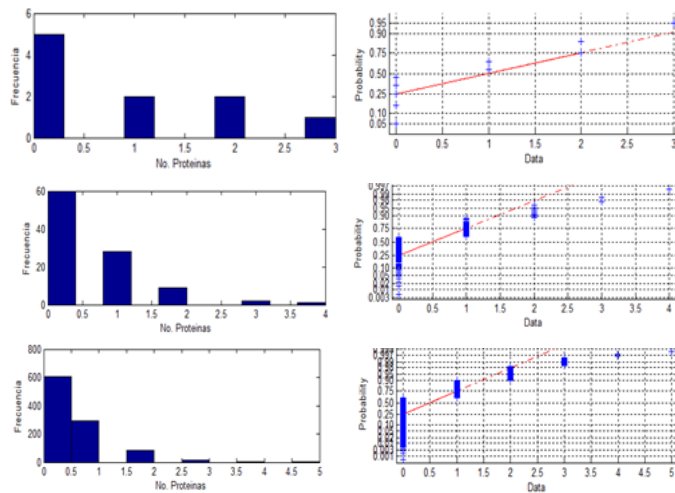


Figura 5. Frecuencia y Probabilidad calculadas a partir del método directo para la red génica simple de la síntesis de una proteína en tiempo $t=10$ segundos variando el número de ciclos de ejecución del algoritmo de 10 (Panel superior), 100 (Panel intermedio) y 1000 (Panel inferior).

Tabla 6. Valores asociados a la figura 6. para el último valor de la Media, Desviación y Varianza de la producción de proteína en $t=100$ segundos a diferentes ciclos de ejecución del algoritmo.

Ciclos de ejecución del algoritmo	Tiempo de Simulación	Media	Desviación
10	0.052608	0.9	1.1005
100	0.406881	0.56	0.8204
1000	4.2368	0.518	0.7472

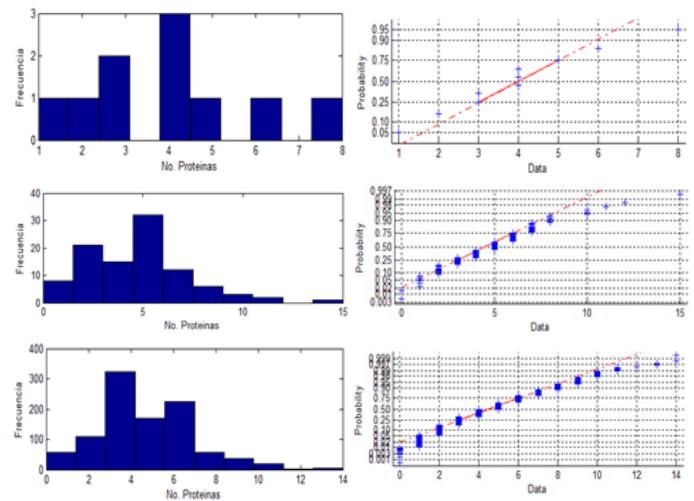


Figura 6. Frecuencia y Probabilidad calculadas a partir del método directo para la red génica simple de la síntesis de una proteína en tiempo $t=100$ segundos variando el número de ciclos de ejecución del algoritmo de 10 (Panel superior), 100 (Panel intermedio) y 1000 ciclos (Panel inferior).

La representación estocástica de las interacciones moleculares tiene una base teórica más fuerte que la cinética determinística cuando el número de moléculas es menor. Los resultados de un modelo estocástico difieren con su equivalente determinista, principalmente cuando se trata de la expresión génica, siendo necesaria la información cuantitativa para entender el fenómeno (1). Lo anterior posiblemente se debe al ruido transcripcional y traduccional propio de los sistemas biológicos y el cual es depreciado en los modelos deterministas.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, el método Determinístico es el que menor tiempo tarda en resolverse y el que requiere una menor demanda computacional; sin embargo, el método determinista no refleja el comportamiento de la población. Al comparar los resultados obtenidos a partir de las simulaciones de 1000 ciclos de ejecución del algoritmo y tiempo $t=100$ segundos para los dos métodos estocásticos evaluados, se tiene que el método de la primera reacción tarda ≈ 10.23 segundos, el método directo tarda ≈ 42.58 segundos para realizar la ejecución, en contraste el método Determinístico para $t=500$ segundos tarda 1.88 segundos.

Según las estructuras de los algoritmos lo esperado sería que el método directo tardara menos en realizar todas las iteraciones, pues en el método directo se generan únicamente dos números aleatorios, comparado con el método de la primera reacción en el que se generan 4 números aleatorios (uno para cada evento o reacción). Sin embargo, los resultados de las simulaciones muestran que el método directo es computacionalmente más demandante.

Lo que se cree fue causado por la manera en la que se planteó el algoritmo del método directo, pues en lugar de plantear un loop de tipo while se planteó un loop de tipo for encadenado con un condicional en el que el contador del ciclo se multiplica por un factor de 300, para asegurar que el ciclo termine solo cuando se dejara de cumplir la condición del comando interior.

Adicionalmente, al comparar los resultados representados en los histogramas que se obtuvieron por el método de la primera reacción (Figura 4) con los que se obtuvieron por el método directo (Figura 6), se observa que para métodos directos se requiere de un menor número de ciclos de ejecución del algoritmo para obtener un resultado confiable. Esto se evidencia en los histogramas del método directo (Figura 6) donde se observa que con 1000 ciclos de ejecución del algoritmo el resultado no varía significativamente con el observado a 100 ciclos de ejecución del algoritmo para el sistema que representa la expresión génica, lo cual no ocurre para el modelamiento estocástico cuando el sistema es simulado bajo la aproximación del método de la primera reacción (Figura 4) donde es necesario de tener el mayor número de ejecuciones del algoritmo para tener un resultado más confiable.

Cabe notar que el tiempo de simulación bajo la aproximación estocástica del sistema tanto para el método de la primera reacción como para el método directo es proporcional al número de eventos en el sistema. Se puede afirmar, por consiguiente, que estos algoritmos son de orden M , lo cual se representa que como $O(M)$; en otras palabras, si se duplica el número de eventos se esperaría que el tiempo de simulación se duplique de igual manera (11,12). En este punto es importante considerar que cuando el número de reacciones M es mayor a tres, el método directo es un poco más eficiente (8).

En adición, se puede inferir del planteamiento de los algoritmos presentados en la sección de materiales y métodos, que el método directo selecciona el evento que se efectúa mediante las desigualdades para a_i , en cambio el método de la primera reacción selecciona el evento mediante la identificación de τ_i más pequeño. Sin embargo, para los dos métodos se realiza una selección lineal (se verifica cada a_i y cada τ_i por medio de un condicional), lo que implica que se genera mayor gasto computacional a medida que se aumenta el número de reacciones, esto no representa un problema cuando se trata de un sistema con 4 eventos.

Pero cuando el número de reacciones sea mucho mayor, seguramente será más conveniente resolver el sistema de ecuaciones mediante el método directo si lo que se requiere es tener una aproximación más real a los fenómenos que ocurren a nivel biológico (Procesos transcripcionales y traduccionales) sin que la demanda computacional sea un limitante. Por otro lado, si lo que se requiere es observar el comportamiento global del sistema sin tener en cuenta los eventos biológicos de transcripción y traducción en un modelo de expresión génica lo recomendable es seguir un método determinístico que igualmente arrojará resultados confiables.

Análisis de Sensibilidad

Como se mencionó en el apartado de materiales y métodos se llevó a cabo el análisis de sensibilidad, se variando las constantes cinéticas un valor por encima y uno por debajo de los valores iniciales que se muestran en la Tabla 1. Lo anterior en busca de determinar el efecto que tienen los cambios en los valores de las constante cinéticas sobre la producción de la proteína para el

método determinístico y los dos métodos estocásticos evaluados en este trabajo. Los valores empleados en el análisis de sensibilidad para las tres aproximaciones mencionadas anteriormente se especifican en la Tabla 7.

Tabla 7. Valor de los parámetros utilizados

Parámetro	Constante
λ	0.8-1.2 s-1
μ	3.0-7.0 s-1
ν	0.7-1.3 s-1

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó para determinar si el efecto del parámetro sobre la media fue significativo, los resultados arrojan un valor p bajo una hipótesis nula H_0 , lo cual indica que no existe una diferencia entre los valores de la media de la proteína al variar las constantes cinéticas, por lo que se rechaza si el valor de p es menor de 0.05.

Método Determinístico

Los resultados del análisis de sensibilidad siguiendo la aproximación determinística para el modelo se reflejan en la Figura 7 y la Tabla 8. Con estos resultados se evidencia que el cambio en las constantes cinéticas influye directamente en el número de proteínas total con mayor frecuencia. Cuando se aumenta el valor de λ el gen se activa más rápido reflejando una mayor producción de la proteína, mientras que si se aumenta el valor de μ la velocidad de la reacción reversible para tener el gen en su forma inactiva es mucho más grande que la constante cinética de la reacción hacia adelante (reacción que representa la transición del gen inactivo al gen activo), obteniendo así una menor producción de la proteína. Si se aumenta el valor de ν , es decir, la velocidad de producción de la proteína, ésta aumenta y sigue en aumento si la constante de degradación es menor.

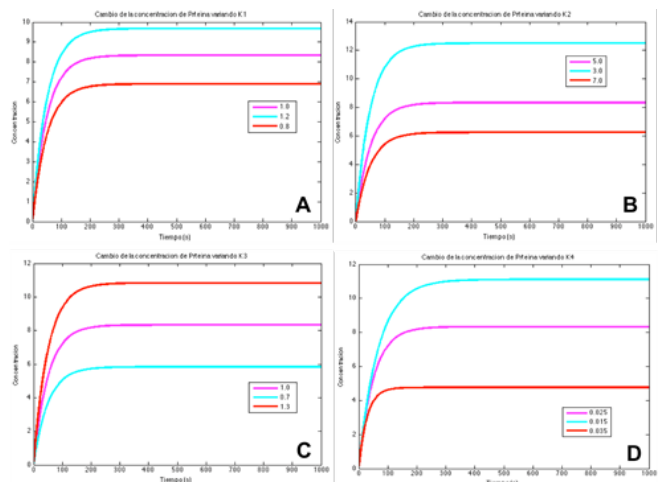


Figura 7. Modelo Determinístico de la red génica simple para la síntesis de una proteína. Perfil de concentraciones para P3 a un tiempo $t=1000$ s variando los parámetros A) variación de λ , B) Variación de μ C) Variación de ν y D) Variación de σ

El análisis de sensibilidad se realizó para las simulaciones de 1000 ciclos de ejecución del algoritmo y un tiempo $t=100$, debido a que estos ensayos son los que presentan menor dependencia al valor que tomara el número aleatorio. Sumado a esto las medidas estadísticas de media y desviación son más confiables debido al número de datos.

Tabla 8. Valores de la concentración de proteína en el modelo determinístico variando las constantes cinéticas en $t=500$ segundos. A condiciones normales la concentración de proteína fue 8.3330 moléculas.

	$\lambda=0.8$	$\lambda=1.2$
[Proteína]	6.8962	9.6770
	$\mu=3$	$\mu=7$
[Proteína]	12.4994	6.2497
	$v=0.7$	μ
[Proteína]	5.8331	10.8328
	$\sigma=0.015$	$\sigma=0.035$
[Proteína]	11.1050	4.7619

Método de la Primera Reacción

Los resultados del análisis de sensibilidad siguiendo la aproximación estocástica con el método de la primera reacción para el sistema biológico estudiado se reflejan en la Figura 8 y la Tabla 9.

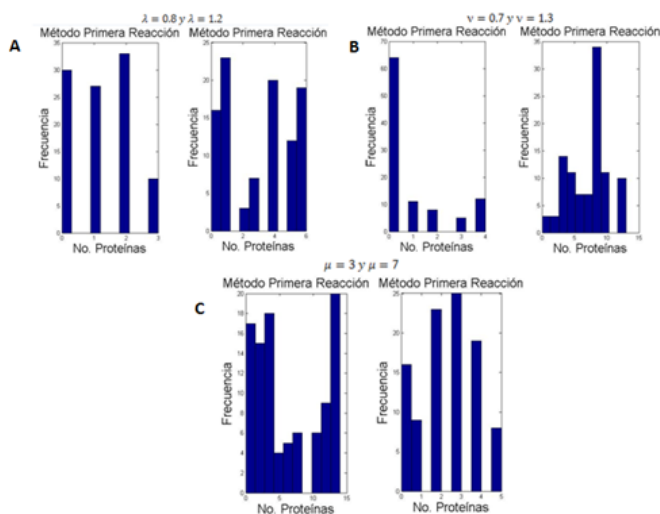


Figura 8. Histogramas para el Método de la Primera Reacción de la red génica simple para la síntesis de una proteína evaluado a tiempo $t=100$ y 1000 ciclos de ejecución del algoritmo variando los parámetros A) variación de λ , B) Variación de μ y C) Variación de ν

A partir de los resultados consignados en los histogramas de la Figura 8, se deduce que, al variar las constantes cinéticas, la frecuencia del número de proteínas varía (variación de la concentración). Para un valor mayor de λ hay mayor posibilidad de encontrar más cantidad de proteínas, pero con una frecuencia menor.

Por otro lado, al aumentar el valor de ν , el número de proteínas también es mayor, pero con una frecuencia más alta, lo cual biológicamente tiene sentido debido a que ν es la constante cinética de síntesis de la proteína. Al disminuir el valor μ la frecuencia para encontrar mayor número de proteínas es más alta debido a que existe mayor cantidad del gen en estado activo. Lo anterior se corrobora con los datos de los valores de p consignados en la Tabla 9.

Tabla 9. Resultados del Anova realizado en RStudio sobre la media a $t=100$ y 1000 ciclos de ejecución del algoritmo, variando parámetros usando el método de la primera reacción.

Parámetro	Media Cuadrada	Valor de F	Pr(>F)
λ	192.33	31.8	2.15e-14
μ	4887	742.1	<2.15e-16
ν	2178	365.2	<2.15e-16

Método directo

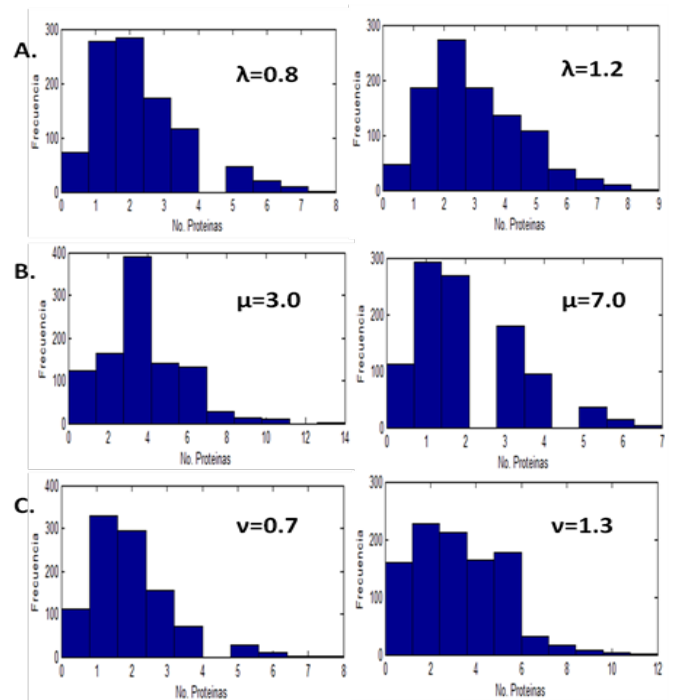


Figura 9. Histogramas para el Método directo de la red génica simple para la síntesis de una proteína evaluado a tiempo $t=100$ y 1000 variando ciclos de ejecución del algoritmo los parámetros A) variación de λ , B) Variación de μ y C) Variación de ν

Los resultados del análisis de sensibilidad siguiendo la aproximación estocástica con el método directo para el sistema biológico estudiado se pueden observar en la Figura 9 y la Tabla 10.

De acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 9 y 10 se puede evidenciar que el valor de p para el método de la primera reacción y el método directo es menor a 0.05, por lo cual se rechaza la hipótesis, es decir, existe una diferencia significativa entre los valores medios de cantidad de proteína al variar las constantes cinéticas.

Tabla 10. Resultados del Anova realizado en RStudio sobre la media a $t=100$ y 1000 ciclos de ejecución del algoritmo, variando parámetros usando el método directo.

Parámetro	Media Cuadrada	Valor de F	Pr(>F)
λ	238.85	13.55	1.55e-6
μ	1362.1	50.06	<2e-16
ν	7351	268.7	<2.16e-16

Los resultados de las dos aproximaciones estocásticas no se ajustan en su totalidad a los datos reportados por Goss y Peccoud (1998) en su trabajo “Quantitative modeling of stochastic systems in molecular biology by using stochastic Petri nets” (1), debido probablemente a que Goss y Peccoud realizan su trabajo aumentando el número de ciclos de ejecución de los algoritmos hasta un valor de 100000.

Conclusiones

El modelo determinista del sistema de ecuaciones diferenciales acopladas logra predecir los valores en estado estacionario acercándose a la aproximación reportada en el artículo de Goss y Peccoud de 1998 (1), pero no arroja información acerca de la distribución de los diferentes estados dentro de la población.

La resolución mediante el método directo propuesto por Gillespie fue la más demandante computacionalmente comparada con el método de la primera reacción y el método determinístico, lo que se cree que está relacionado con la manera en la que se planteó el algoritmo y por la generación de los dos números aleatorios que se requieren para la resolución del sistema.

Pese a lo anterior es el método directo el más recomendable para el estudio estocástico de modelos biológicos con un número de reacciones mayor a 3.

Mediante el análisis estadístico, se rechazaron todas las hipótesis nulas, es decir, se encontró que la cantidad de proteína total producida si depende de los valores que tomen las probabilidades de los eventos de activación del gen, inactivación del gen y producción de proteína.

Finalmente, se consiguió reflejar en este trabajo como los resultados obtenidos por medio de una aproximación determinística difieren de los arrojados al implementar una aproximación estocástica, esto principalmente justificado por el comportamiento global del modelo determinístico que tan solo refleja lo que ocurre a nivel de una sola célula, mientras que el estocástico considera el comportamiento de toda la población celular.

Referencias

- Goss PJ, Peccoud J. Quantitative modeling of stochastic systems in molecular biology by using stochastic Petri nets. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. National Academy of Sciences; 1998 Jun 9; 95(12):6750–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9618484>
- Shmulevich I, Aitchison JD. Deterministic and Stochastic Models of Genetic Regulatory Networks. Methods in enzymology [Internet]. 2009. p. 335–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19897099>
- Mettetal JT, Muzzey D, Pedraza JM, Ozbudak EM, van Oudenaarden A. Predicting stochastic gene expression dynamics in single cells. Proc Natl Acad Sci [Internet]. 2006 May 9 103(19):7304–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16648266>
- Heiner M, Gilbert D, Donaldson R. Petri Nets for Systems and Synthetic Biology. Formal Methods for Computational Systems Biology [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2008. p. 215–64. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-68894-5_7
- Pedraza JM, van Oudenaarden A. Noise Propagation in Gene Networks. Science (80-) [Internet]. 2005 Mar 25;307(5717):1965–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15790857>
- Srivastava R, You L, Summers J, Yin J. Stochastic vs. deterministic modeling of intracellular viral kinetics. J Theor Biol [Internet]. 2002 Oct 7;218(3):309–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12381432>
- Klipp E (Edda), Liebermeister W, Wierling C, Kowald A. Systems biology : a textbook. 2nd ed. 2016. 488 p.
- Gillespie DT. A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions. J Comput Phys [Internet]. Academic Press; 1976 Dec 1;22(4):403–34. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0021999176900413>
- Machado D, Costa RS, Rocha M, Rocha I, Tidor B, Ferreira EC. Model transformation of metabolic networks using a Petri net based framework. Available from: https://www.kimosys.org/documentation/Machado_ModelReduction.pdf
- Pahle J. Biochemical simulations: stochastic, approximate stochastic and hybrid approaches. Brief Bioinform [Internet]. Oxford University Press; 2009 Jan 10(1):53–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19151097>
- Barnes DJ. Introduction to modeling for biosciences. Springer; 2014.
- Barnes DJ, Chu D. Other Stochastic Methods and Prism. Introduction to Modeling for Biosciences [Internet]. London: Springer London; 2010. p. 215–72. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-1-84996-326-8_6

Evaluación de extractos vegetales para manejo de quemaduras caústicas: Irritación/Corrosión dérmica aguda. Bogotá, 2018.

María Claudia Barrera Céspedes^{1*}, Luis Miguel Pombo Ospina^{2,9}, Juan Carlos Mancipe Vargas³, Andrés Mauricio Duarte Hernández⁴, John Fredy Hernández Montaño^{5,9}, Oscar Eduardo Rodríguez Aguirre^{6,9}, Sandra Paola Santander González^{7,9}, Antonio Luis Mejía Piñeros^{8,9}, German Rodrigo Núñez Jejen¹⁰, María Camila Lagos Madero¹⁰, Laura Stephania Guerreiro Fajardo¹⁰, Angie Karolyne González Alarcón¹⁰, Laura Alejandra Londoño Valero¹⁰, Laura del Mar Lozada Cruz¹⁰

1. Médico General, Microbióloga Industrial y Estudiante de IV Semestre de Especialización en Terapéuticas Alternativas y Farmacología Vegetal. Fundación Universitaria Juan N. Corpas (FUJNC).
2. MSc. Ciencias Biológicas. IQ. Director Centro de Investigación. FUJNC.
3. MSc. Ciencias Biológicas. Especialista en Microbiología Médica. Médico Veterinario. Universidad de La Salle
4. Médico Patólogo. Clínica Corpas. Candidato a Maestría en educación universitaria.
5. Ph.D. Químico farmacéutico. FUJNC.
6. Ph.D. Ciencias Biológicas. M.Sc. Biología. Lic. Química y Biología. Investigador FUJNC. Docente- Investigador en Universidad del Bosque.
7. Ph.D. Ciencias Biológicas. Bacterióloga. Docente Investigador FUJNC.
8. M.Sc. Fitoterapia. Biólogo. Docente Investigador FUJNC.
9. Grupo de Investigación en Terapéuticas Alternativas y Farmacología Vegetal (GIFVTA);.
10. Estudiantes de X semestre e Integrantes del Semillero de Investigación Fitoterapia y Piel. FUJNC.

Autor de correspondencia:
maria-barrera@juanncorpas.edu.co

Barrera MC, Pombo LM, Mancipe JC, Duarte AM, Hernández JF, Rodríguez OE, et al.

Evaluación de extractos vegetales para manejo de quemaduras caústicas: irritación/corrosión dérmica aguda. Bogotá/2018. Revista Cuarzo 2018;24 (1) 17-27.

Recibido: 2 de mayo de 2018
Aceptado: 17 de junio de 2018
Publicado: 30 de junio de 2018

Licencia creativa
commons



Resumen

Introducción: Aunque las quemaduras caústicas representan un bajo porcentaje de las quemaduras, dadas las complicaciones que asocian, son un problema de salud pública que exige nuevas opciones terapéuticas como son el uso de productos derivados de plantas, entre ellos, *Calendula officinalis*, *Aloe vera* y *Cannabis sativa*, cuyo uso está condicionado, inicialmente a pruebas como la evaluación de su efecto irritativo/corrosivo agudo en piel.

Materiales y métodos: Estudio experimental en animales, aleatorizado. El material vegetal se obtuvo del Jardín Medicinal Jorge Piñeros Corpas; los aceites y extractos de las plantas se obtuvieron por métodos clásicos de extracción; la base de excipientes fue provista por el Laboratorio de Farmacología Vegetal (LABFARVE). Se emplearon 8 Ratas wistar macho alojadas bajo condiciones controladas y parámetros de ética y bienestar animal. La prueba de irritación/corrosión dérmica aguda se hizo siguiendo la norma OECD 404, tras previa anestesia de los animales y siguiendo los criterios de dolor y punto final.

Resultados: De *Calendula officinalis* se obtuvieron dos aceites esenciales y tres extractos; el gel de *Aloe vera* y un extracto de *Cannabis sativa*. Ninguno de los extractos generó escara, eritema o edema en los animales, siendo negativa la prueba de irritación/corrosión aguda en piel.

Discusión: Los resultados obtenidos desde esta investigación básica en medicina traslacional, brindan evidencia que complementa la información reportada en la literatura acerca del uso tradicional y los estudios in vitro e in vivo de estas plantas para el manejo de diversas enfermedades. La ausencia de efecto irritativo o corrosivo en piel es coherente con el conocimiento del tipo de metabolitos secundarios activos que se han identificado en ellas con actividad antiinflamatoria, antioxidante, antimicrobiana y cicatrizante. Los resultados aseguran su inocuidad química al contemplarlas para investigar su potencial uso terapéutico en lesiones dérmicas, tipo quemaduras caústicas, garantizando su seguridad.

Palabras clave: Quemaduras químicas, Piel, Ratas wistar, *Calendula officinalis*, *Aloe vera*, *Cannabis sativa*, Cicatrización de heridas

Evaluation of plant extracts in the management of caustic burns: Irritation / Acute dermal corrosion. Bogotá-2018.

Abstract

Introduction: Considering that caustic burns represent a low percentage of burns, given the complications they could associate, they are a public health problem that requires new therapeutic options such as the use of plant-derived products, including *Calendula officinalis*, *Aloe vera* and *Cannabis sativa*, whose use is conditioned, initially to tests such as the evaluation of its acute irritative / corrosive effect on skin.

Materials and methods: Randomized. Experimental study in animals, the plant material was obtained from the Jorge Piñeros Corpas Medicinal Garden; the oils and extracts of the plants were obtained by classical methods of phytochemical extraction; the base of excipients was supplied by the LABFARVE Laboratory. Eight-wistar rats male were used under controlled conditions and

parameters of ethics and animal welfare. The test for irritation / acute skin corrosion was carried out under the OECD 404 standard, after anesthesia of the animals and following the end point criteria of pain.

Results: Two essential oils and three extracts were obtained from *Calendula officinalis*; *Aloe vera* gel and an extract of *Cannabis sativa*. None of the extracts generated eschar, erythema or edema in the animals, being negative the skin irritation / acute corrosion test.

Discussion: The results obtained from this basic research in translational medicine, provide evidence that complements the information reported in the literature about traditional use and in vitro and in vivo studies of these plants for the management of various diseases. The absence of irritant or corrosive effect on skin is consistent with the knowledge with the type of chemical active compounds (secondary metabolites) that have been identified with anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial and cicatrizing activity. The results assure their chemical safety when contemplating them to investigate their potential therapeutic use in skin lesions, caustic burns, guaranteeing their safety.

Keywords: Chemical Burns, Skin, Wistar Rats, *Calendula Officinalis*, *Aloe vera*, Wound Healing

Introducción

Las quemaduras son lesiones traumáticas generadas por contacto de los tejidos del organismo con energía transferida de forma aguda por agentes químicos, físicos o biológicos. Dentro de los primeros, los agentes cáusticos, tipo ácido o álcali, son los más vinculados a quemaduras químicas, representando un 2.4 al 10.7% del total de lesiones por quemaduras que asocian una importante morbilidad, cerca del 55% requiere cirugía, frecuentemente involucran áreas cosméticas del cuerpo, asocian una mortalidad hasta del 30% y desde hace varios años vienen asociándose a contextos de violencia armada, interpersonal y agresiones por violencia doméstica en especial hacia las mujeres, aunque la proporción hombre-mujer se ha vuelto similar (1-8).

Dado que las quemaduras por ácido representan complicaciones físicas, psicológicas, familiares, económicas, sociales, además de la incapacidad que muchos pacientes quemados experimentan para desarrollar cualquier actividad laboral, se considera un problema médico y social a nivel mundial por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de Naciones Unidas (ONU) y otras como la Acid Survivors Foundation, han desarrollado programas de prevención y atención a esta población lo cual incluye el desarrollado de leyes y protocolos de manejo médico que incluyen el uso de soluciones anfóteras, quelantes y ligeramente hipertónicas que ayudan en la eliminación de la noxa disminuyendo o previniendo el desarrollo y las secuelas de este tipo de quemaduras.

En Colombia, se han establecido lineamientos como la Ley 1639 del 2 de Julio del 2013 y el Decreto 1033 del 29 de mayo del 2014 que buscan asegurar la prevención, protección y atención integral de víctimas de este tipo de quemaduras, para lo cual, sumado a la regulación de venta de agentes químicos, se diseñó el Protocolo de Atención de Urgencias a Víctimas de Ataques con Agentes Químicos establecido en la resolución 4568 del 2014, que busca garantizar que las víctimas de estos ataques reciban atención oportuna de manera que se logre reducir el daño físico y el daño mental (9-14).

Pese a la existencia en Colombia del protocolo de atención a esta población, el abordaje terapéutico se enfoca en neutralizar y eliminar la sustancia mediante el empleo de sustancias como el agua y el gluconato de calcio, sin embargo, este abordaje basado en una descontaminación pasiva, no logra detener el desarrollo

de la quemadura, sus secuelas y no priorizan en su mecanismo de acción el acelerar procesos de re-epitelización y recuperación del tejido en el manejo temprano posterior a la exposición. En Europa se han desarrollado productos que por su naturaleza anfótera, logran neutralizar los agentes químicos de forma más rápida que el lavado con agua logrando así evitar la progresión de la quemadura y favoreciendo la recuperación tisular, sin embargo no se cuenta con acceso a éstos en Colombia (4, 14-19).

Dada la necesidad de contar con opciones terapéuticas en el manejo del paciente quemado, en la actualidad se han encontrado extractos de origen natural que por su riqueza en principios activos con acciones antiinflamatorias, antibióticas y cicatrizantes; representan una reserva de compuestos que vienen siendo estudiados para uso en el caso de las quemaduras, en las que pueden favorecer los procesos implicados en la recuperación del tejido al actuar como estimulantes de la proliferación celular, antimicrobianos y antiinflamatorios.

Algunos de estos extractos se han encontrado en la *Caléndula officinalis*, *Aloe vera* y *Cannabis sativa* en los cuales además se han encontrado propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, acción de factores de crecimiento que podrían favorecer la recuperación de estos tejidos al ser empleados en una fase aguda de la lesión. Sin embargo, antes del uso de cualquiera de estos extractos vegetales con potencial terapéutico, se hace necesario realizar estudios previos que aseguren la inocuidad química de los mismos a fin de utilizarlos garantizando la protección de la salud humana y del medio ambiente; de ahí que a nivel internacional, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, OECD, haya emitido una serie de Guías que se han establecido como métodos estándar a nivel internacional a nivel mundial para evaluar los efectos potenciales de las sustancias químicas, incluyendo productos industriales, pesticidas y productos de cuidado personal (20-25).

Al realizar la búsqueda de literatura en bases de datos como PUBMED, se encuentra que existen relativamente pocos trabajos experimentales en modelos animales acerca de evaluación de extractos vegetales con potencial terapéutico para el manejo de quemaduras químicas a diferencia de las quemaduras térmicas; y aunque se han adelantado modelos animales en cerdos, cobayos y en conejos para el estudio de procesos en piel, las ratas, *Rattus norvegicus* y línea de consanguinidad Wistar; después del ratón, son el segundo modelo animal más empleado para inves-

tigación biomédica, dadas la similitud en estructura de la piel con los humanos, lo cual hace posible observar en procesos de quemaduras, las características clínicas de las lesiones y las diferentes etapas de cicatrización de la herida (26-30). Adicionalmente siguen siendo uno de los modelos de fácil manipulación, disposición, bajo costo de mantenimiento y al ser una especie filogenéticamente menor a las anteriores permiten cumplir con el principio de Refinamiento dentro del principio de las 3R el cual busca garantizar estándares éticos en la investigación con animales (26,27,31-33).

El objetivo de este estudio es, a través de un modelo animal en ratas, evaluar si los extractos naturales de *Caléndula officinalis*, *Aloe vera*, *Cannabis sativa* y agentes excipientes tienen alguna acción irritativa/corrosiva dérmica aguda a fin de seleccionarlos para pruebas in vivo como herramientas terapéuticas para el manejo agudo de quemaduras por agentes cáusticos. El uso de este tipo de productos en una fase aguda dentro del manejo de la quemadura química podría representar una alternativa más socio costo efectiva para su tratamiento.

Materiales y Métodos

Tipo de estudio: Experimental en animales. Diseño completamente aleatorizado.

Lugar donde se llevó a cabo: Bioterio de la Fundación Universitaria Juan N. Corpas (FUJNC).

Obtención de extractos vegetales y base de excipientes

Material vegetal: Las hojas de *Aloe vera* (COL 333430), las hojas y flores de *Caléndula officinalis* (COL 297298) y las hojas y flores de *Cannabis sativa* (COL 602867) se obtuvieron frescas del Jardín Medicinal Jorge Piñeros Corpas (longitud - 74,0939-Latitud 4,7621).

Extracción: Los aceites esenciales de flores y de hojas de *Caléndula officinalis*, se obtuvieron por hidrodestilación (Figura 1). A partir de las hojas y flores se hizo una extracción por Soxhlet empleando dos solventes de polaridad diferente obteniéndose el extracto etanólico y el extracto en diclorometano.

Se obtuvo un tercer extracto de hojas y flores por fluido supercrítico en el equipo SFT-110 XW, sometiendo 50 g de flores y hojas, previamente secas al ambiente, a cuatro ciclos de extracción, a 5000 psi y 50°C, con un flujo de CO₂ de 10 mL/min (Figura 2).

Para la extracción del gel de *Aloe vera*, las hojas fueron lavadas y seccionadas longitudinalmente para extraer el gel de la zona central. Los gels se homogenizaron en agua a 70°C y se filtraron, conservándose a 4°C para su uso (Figura 3). Por otra parte, de *Cannabis sativa* se tomaron las flores de una planta hembra y se hizo una extracción por Soxhlet con etanol.

Todos los extractos fueron concentrados al vacío, por separado, mediante rota evaporación y posteriormente resuspendidos en agua a temperatura de 30°C para su disolución y posterior aplicación en la prueba de irritación/corrosión dérmica aguda.

Figura 1. Hidrodestilación de aceites esenciales de *Caléndula officinalis*

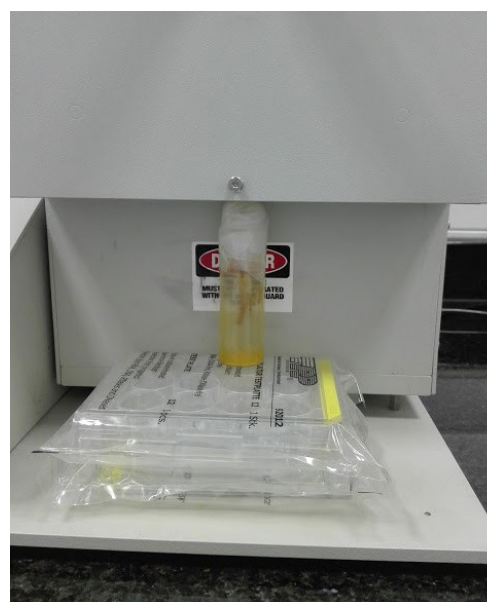


Fuente: Autores. Montaje de elementos requeridos para proceso de hidrodestilación de flores y hojas de *Caléndula officinalis* en el Laboratorio de Fitoquímica de la FUJNC.

Todos los procedimientos se llevaron a cabo teniendo en cuenta los lineamientos de los Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo (34).

La base de excipientes (BE) con propiedades anfóteras y diluyentes fue suministrada por el Laboratorio de Farmacología Vegetal (LABFARVE) de la FUJNC.

Figura 2. Extracto de *Caléndula officinalis* obtenido por fluido supercrítico



Fuente: Autores. Frasco con el extracto obtenido por fluido supercrítico en el equipo FT-110 XW del Laboratorio de Fitoquímica de la FUJNC.

Figura 3. Gel de *Aloe vera*



Fuente: Autores. Gel de *Aloe vera* homogenizado en agua a 70°C listo para llevar a congelación a 4°C en el Laboratorio de Fitoquímica de la FUJNC.

Animales

Se emplearon 8 ratas Wistar machos de 300-350 g de peso promedio, 3-4 meses de edad adquiridos en el Instituto Nacional de Salud. Una vez recibidos en el Bioterio de la institución se realizó el acondicionamiento al macroambiente y microambiente durante 15 días.

Los animales fueron identificados en la cola, alojados en jaulas separadas, cada una con enriquecimiento ambiental; a temperatura ambiente de 20-25°C, humedad relativa de 70%, ciclos de fotoperiodo luz-oscuridad de 12 horas, con agua y alimento ad libitum y rutina de limpieza diaria (Figura 4).

Figura 4. Alimentación y Agua ad libitum para los animales



Fuente: Autores. Pesaje y preparación del alimento y los dispositivos de bebida para cada jaula donde se alojaron los animales.

Todas las pruebas se hicieron bajo los lineamientos de la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th Ed. NRC, USA, el Manual de procedimientos recomendables para la Investigación con animales, la propuesta de estudio en animales de laboratorio del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos (NIH) y con previa revisión y autorización del Comité de Ética de la Fundación Universitaria Juan N. Corpas (28,35,36).

Prueba de irritación/corrosión dérmica aguda

24 horas antes de la prueba, tras anestesia con Ketamina 50mg/kg y Xylazina 5mg/kg intraperitoneal, se afeitó un área de 6 cm² en el dorso de cada uno de los animales, teniendo cuidado de no generar abrasiones.

Sobre el área dorsal del animal, previamente afeitada, se colocó una dosis aproximada de 0.5 ml de la BE y de cada uno de los aceites y extractos obtenidos. Se empleó un animal para cada sustancia evaluada, tomándose como control las áreas del dorso no expuestas a la misma. Se observaron los resultados de acuerdo a la Escala de Valoración de eritema o edema en piel (tabla 1), a los 3 minutos, a la hora, a las 4, 24, 48, 72 horas. En caso de observarse reacciones dérmicas las observaciones se extendieron hasta los 14 días.

Tabla N°1. Escala de Valoración de reacciones de piel

Eritema y formación de escara	Puntaje
No eritema	0
Muy ligero eritema (apenas perceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado a severo	3
Eritema grave (enrojecimiento color rojo) o formación de escaras.	4
Formación de edema	Puntaje
No edema	0
Muy ligero edema (apenas perceptible)	1
Edema ligero (bordes del área bien definida por elevaciones concretas)	2
Edema moderado (Elevado aproximadamente 1 mm)	3
Edema grave (levantado más de 1 mm y se extiende más allá del área de exposición)	4

Fuente: 37.OECD. Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 [internet]. Paris. 2015 [Consultado 2016 Julio 8]. Disponible en: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9715231e.pdf?expires=1468119731&id=id&accname=guest&checksum=ABA9EAB464727B2C892BC7377E5E336A>

Todos los procedimientos se hicieron siguiendo los lineamientos establecidos en la OECD Guideline for testing of chemicals: Test 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion, la cual contempla igualmente los principios de las 3R que buscan garantizar estándares éticos en la investigación con animales (37).

A la luz de esta escala se consideró lesión correspondiente a irritación dérmica aquella que produce daño reversible de la piel tras 4 horas de ejecución de la prueba; y lesión de corrosión dérmica (quemadura de segundo grado profunda y de tercer grado)

aquellas en la que hay daño irreversible de la piel tras 4 horas de ejecución de la prueba. Estas últimas se caracterizan por flictenas, úlceras, sangrado, costras oscuras, áreas de alopecia, descoloración por blanqueamiento de la piel, necrosis visible a través de la epidermis y en la dermis, las cuales requieren evaluación histopatológica (37).

Durante todo el estudio se hizo seguimiento a signos de dolor o estrés de los animales (tabla 2), así como los criterios de punto final (35,36).

Tabla N°2. Indicadores de dolor en Ratas

Comportamiento general	Apariencia	Fisiología
Actividad reducida; disminución en la ingestión de agua y alimento, lamido; automutilación; agresión y vocalización; aversión a otros animales.	Descuidada; pilo erección; postura anormal; encorvamiento; porfirinas (“lágrimas rojas”) ojos cerrados; pupilas dilatadas; abombamiento nasal, abombamiento de carrillo, descarga nasal.	Sueño interrumpido hipotermia; respiración rápida y superficial; gruñido con la espiración.

Fuente: 36. Navarro JA, Ramírez RA, Villagrán C. Manual de Procedimientos recomendables para la investigación con animales. [internet] México: SAMSARA. 2012 [consultado 2016 Julio 9]. Disponible en: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/profesionalesSalud/investigacionSalud/cbis/manualprocedimientosanimales.pdf>

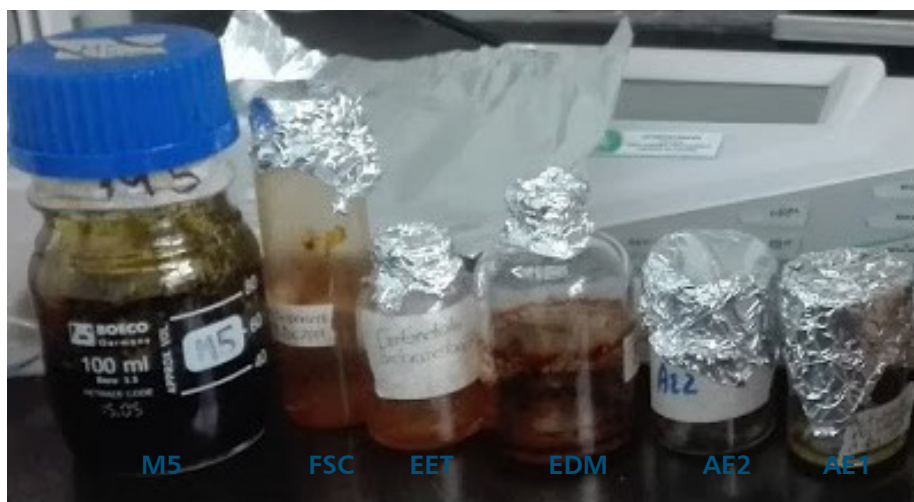
Resultados

De *Calendula officinalis* se obtuvieron dos aceites esenciales: Aceite esencial de flores (AE1) y Aceite esencial de hojas (AE2); extracto con diclorometano (EDM), extracto etanólico (EET), extracto con fluido supercrítico (FSC). De *Aloe vera* se obtuvo

el gel de las hojas (AVG) y de *Cannabis sativa* se obtuvo el extracto etanólico (M5) (Figura 5)

Los seis animales, fueron afeitados (Figura 6 y 7) y trascurridas 24 horas se procedió a aplicar con gasa estéril la base de excipientes y cada uno de los aceites y extractos (Figura 8).

Figura 5. Extractos vegetales obtenidos por métodos fisicoquímicos para evaluación de prueba de irritación/corrosión aguda dérmica en ratas wistar.



Fuente: Autores. Extractos obtenidos en el Laboratorio de Fitoquímica de la FUJNC.

Figura 6. Alojamiento, alimentación y bebidas Ratas Wistar.



Fuente: Autores. Jaula de alojamiento en Bioterio Fundación Universitaria Juan N. Corpas (FUJNC)

Figura 7. Área del dorso del animal afeitada



Fuente: Autores. Rata Wistar en Bioterio Fundación Universitaria Juan N. Corpas (FUJNC)

En la prueba de irritación/corrosión dérmica aguda, todos los animales sobrevivieron y de acuerdo con los parámetros dados en la escala de valoración de irritaciones en piel, se estableció

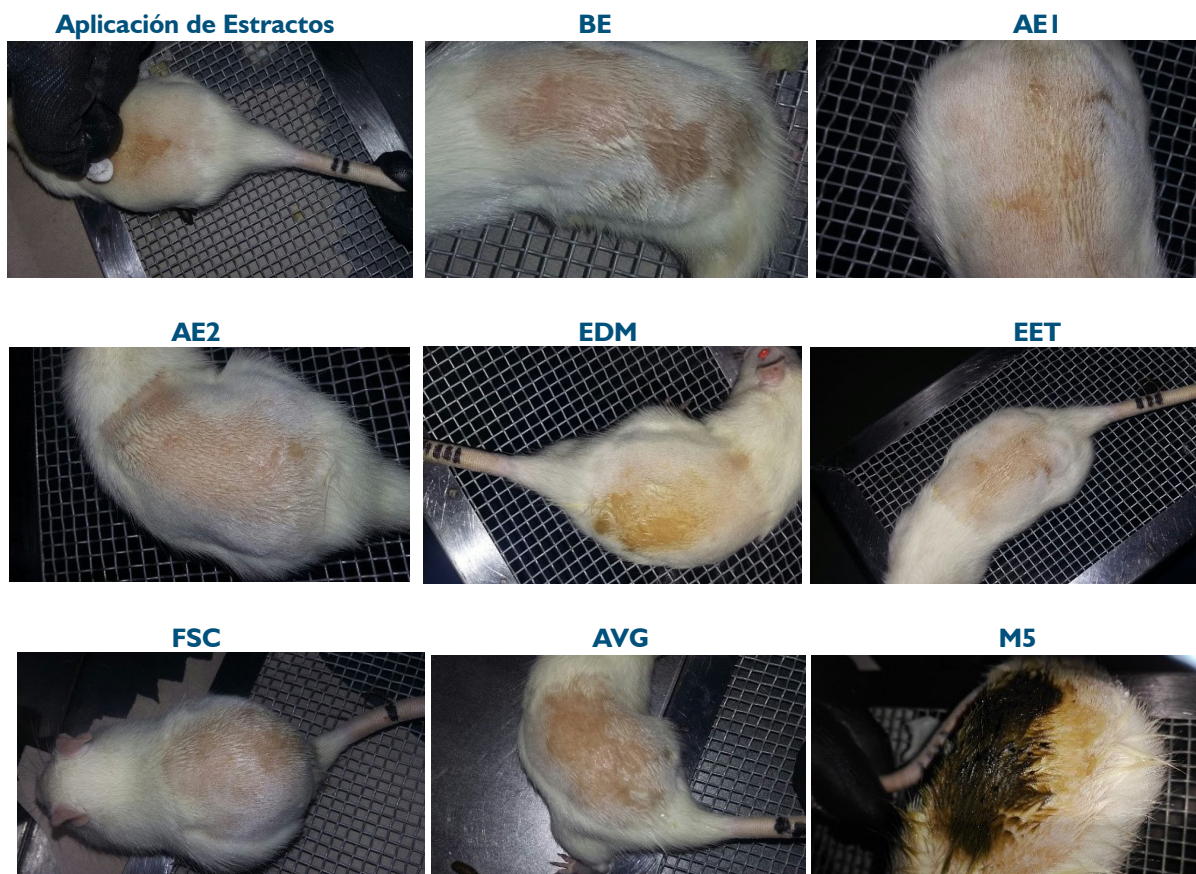
que en ninguno hubo presencia de formación de escara, eritema o edema, signos indicadores de irritación o de corrosión a lo largo de los 14 días de experimentación (tabla 3).

Tabla N° 3. Valoraciones de Irritación/corrosión dérmica aguda realizadas en el dorso de los animales expuestos a Base de excipientes, extractos y aceites vegetales.

Sustancia Evaluada	Puntaje Eritema y formación de escara (0 a 4)							Puntaje Formación de edema (0 a 4)						
	3 min	1h	4h	24h	4h8	72h	14 días	3 min	1 h	4 h	24 h	48h	72h	14 días
BE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AE1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AE2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EDM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FSC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AVG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Autores. Base de excipientes (BE), Aceite esencial de flores (AE1), Aceite esencial de hojas (AE2); extracto con diclorometano (EDM), extracto etanólico (EET), extracto de fluido supercrítico (FSC). De *aloe vera* se obtuvo el gel de las hojas (AVG) y de *Cannabis sativa* se obtuvo el extracto etanólico (M5).

Figura 8. Aplicación de base de excipientes, aceites y extractos vegetales aplicados sobre el dorso de cada animal.



Fuente: Autores. Dorsos de Ratas Wistar con la base de excipientes (BE), Aceite esencial de flores (AE1), Aceite esencial de hojas (AE2); extracto con diclorometano (EDM), extracto etanólico (EET), extracto de fluido supercrítico (FSC). De *aloe vera* se obtuvo el gel de las hojas (AVG) y de *Cannabis sativa* se obtuvo el extracto etanólico (M5).

Todos los animales se conservan en el Bioterio bajo condiciones adecuadas y controladas de alojamiento, para dar continuidad a la segunda etapa de la investigación.

Discusión

Los resultados obtenidos en la prueba de irritación/corrosión dérmica aguda para cada una de las sustancias evaluadas, evidencian que no generan reacciones en piel, a un nivel experimental, que pudieran poner en riesgo la salud humana al ser empleados tópicamente, lo cual desde la medicina traslacional, entendida, según la definición del National Institutes of Health (NIH) como el proceso de aplicar ideas, nuevos conceptos y descubrimientos generados a través de la investigación básica al tratamiento o prevención de enfermedades humanas” (39) permite avanzar en la evaluación del posible uso terapéutico de los extractos de las plantas evaluadas en el manejo de las quemaduras cáusticas, las cuales constituyen una problemática de salud pública.

Los productos de dos de las plantas evaluadas, *Caléndula officinalis* y *Aloe vera* comparten su uso tradicional, desde tiem-

pos antiguos, como agentes antiinflamatorios, antimicrobianos y cicatrizantes. La *Caléndula officinalis*, comúnmente conocida como caléndula, perteneciente a la familia de las asteráceas; es una hierba aromática, erecta, anual con flores de color amarillo a naranja, utilizada en el Mediterráneo desde el siglo XIII cuando se introduce a Europa como un agente antiinflamatorio para el manejo de heridas, quemaduras de primer grado, contusiones y erupciones en piel; llegando a ser recomendada por el Gobierno Alemán en el manejo de úlceras de piernas e internamente para lesiones inflamatorias de la mucosa oral y faríngea (38).

Desde entonces, países como Asia y Europa, quienes por mucho tiempo recopilaban la mayor parte de literatura que describe la actividad medicinal de esta planta; y países de América, vienen estudiándola como terapéutico en procesos inflamatorios de piel, mucosas, úlceras venosas, hemorroides, dermatitis, prostatitis (40), periodontitis (41), procesos oftalmológicos (42), procesos infecciosos, como antitumoral (43), como protector en procesos de nefrotoxicidad (44), entre otros. Tanto los aceites esenciales de esta planta, los cuales se sabe que son ricos en productos como el α - Thujene, el α - pineno y el 1,8 cineol, también llamado eucalipto; todos compuestos de tipo monoterpenos carac-

terizados por ser volátiles; como los extractos ricos en otro tipo de compuestos como sesquiterpenos, triterpenos, flavonoides, cumarinas, quinonas, carotenoides, amino ácidos y compuestos fenólicos, así como el phartenolide, una lactona sesquiterpénica, hallada principalmente en las hojas de las asteráceas con actividad antiinflamatoria y antioxidante, aún mayor al ácido ascórbico (45-46), han evidenciado actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas en modelos in vitro, in vivo e incluso a nivel clínico (47-50), permitiéndole ser uno de los productos empleados en salud para el manejo de las enfermedades descritas, entre otras.

Los resultados obtenidos en éste estudio, aportan significativamente en la comprensión de la ausencia de un efecto corrosivo o irritativo por parte de los extractos utilizados.

Aloe vera, cuyo nombre nace del vocablo árabe “alloe” que significa sustancia amarga brillante y “vera” que significa verdad, recibe el nombre popular de sábila, pertenece a la familia Liliaceae, y ha sido usada de manera tradicional como laxante y para aplicaciones tópicas como tratamiento de enfermedades infecciosas y problemas de piel.

Sumado a este saber tradicional, diversos estudios han encontrado el beneficio de sus componentes, en los que el metabolito primario más importante es el polisacárido derivado de la manosa, llamado glucomanano presente en el gel, el cual logra inhibir el crecimiento bacteriano por su alto potencial osmótico, estimula la regeneración de tejidos al actuar sobre el receptor del factor de crecimiento de fibroblastos incrementando la proliferación de los mismos y aumentando la producción del colágeno.

El gel de *Aloe vera*, adicionalmente se ha asociado a acciones como la hidrólisis de prostaglandinas y bradicininas por lo que reduce el dolor y la inflamación. Estas características han hecho que sea blanco de investigaciones por su acción antimicrobiana, antiviral, antifúngica y antiinflamatoria en procesos de curación de heridas (51-53).

Cannabis sativa, planta de la que se obtuvo el extracto M5 evaluado en nuestro estudio, ha sido cultivada desde mucho tiempo atrás en Asia y Europa, y sus usos terapéuticos se encuentran referidos desde el año 2600 a.C, por el emperador chino Huang Ti, en literatura de la India y del sánscrito del 1400 – 2000 años a.C, en la literatura ayurvédica 900 años a.C, por médicos griegos como Claudius Galeno en el 131 – 201 después de Cristo (AD), y a partir de los siglos XIX – XX en países occidentales por Sir William Osler, padre de la medicina moderna, en 1915; el Doctor E. C. Seguin, conecedor de Osler y presidente de la Sociedad Neurológica de New York, llegando a ser incluida en la Farmacopea Británica y Americana para el manejo de la cefalea (54-55). Sin embargo, debido al uso recreativo y adictivo que se estableció de la misma hacia 1930, su uso se restringió llegando a ser considerada por la Agencia Antidrogas de Estados Unidos, (DEA, de sus siglas en inglés), como una droga de uso ilícito, muy peligrosa (55). Este uso recreativo de la planta, limitó su uso terapéutico y retrasó el avance en la investigación de la mis-

ma, sin embargo, en las últimas décadas ha vuelto a centrarse la atención en el estudio de sus propiedades fitofarmacológicas cobrando importancia como opción terapéutica en diversas enfermedades.

Uno de los avances que ha ayudado en la comprensión del uso medicinal de *Cannabis sativa*, ha sido el conocimiento cada vez más claro del efecto de sus más de 400 compuestos, especialmente el Δ^9 Tetrahidrocanabinol (THC) y el Cannabidiol (CBD), sobre el sistema endocannabinoide, cuya fisiología comenzó a estudiarse dese 1988 tras el descubrimiento de su receptor en cerebro de ratas (54,56).

Hoy en día se conoce que es un sistema de neuromodulación compuesto principalmente por ligandos endógenos, llamados endocannabinoides, como la Anandamina (AEA) y el 2- araquidonil glicerol (AG) ambos derivados del ácido araquidónico; y los receptores cannabinoides del tipo CB1 y CB2 ambos pertenecientes a la familia de receptores acoplados a una proteína G y distribuidos de forma conjunta aunque con predominio del CB1 en el sistema nervioso central, periférico, glándulas endocrinas, salivales, leucocitos, bazo, corazón, ciertas zonas del aparato reproductor, urinario y gastrointestinal; y del CB2 en el sistema inmune y hematopoyético (54,57).

Otros de los sitios de localización son el hígado, músculos, huesos y piel. En esta última se sabe que no solo hay receptores CB, sino que además las células de piel producen endocannabinoides del tipo AEA que inhibe la proliferación, reduce la diferenciación de los queratinocitos en la epidermis y tiene acción antitumoral; se sabe que los CB2 regulan la melanogénesis, los CB1 participan en la inhibición del crecimiento vello corporal, regula las glándulas sebáceas; tanto CB1 como CB2 regulan procesos inflamatorios en piel estimulando síntesis de prostaglandina E2, modulando la liberación de citocinas y actuando en forma diversa sobre fibroblastos (58).

Todas las actividades descritas anteriormente por parte del sistema Endocannabinoide, sobre el cual actúan los fitocannabinoides, es decir los Ligandos derivados de las plantas como el THC y el CBD, han centrado la atención en su cada vez más importante potencial uso terapéutico en piel, en la que además, por su acción central en la modulación del dolor, resulta de gran interés para procesos inflamatorios derivados de enfermedades sistémicas como la psoriasis, la neurofibromatosis, el lupus o localizados como el acné vulgaris, todas patologías en las que se han reportado casos aislados de manejo exitoso del dolor asociado tras uso inhalado de *Cannabis* (59).

En el estudio del efecto de *Cannabis sativa* sobre procesos inflamatorios eczematosos de piel, en modelos animales de ratón, se ha encontrado que mejora la respuesta inflamatoria aunque presenta limitación para sacar conclusiones al no contarse con buenos controles (60,61); y en estudios de su efecto sobre curación de heridas en modelo animal se ha encontrado que favorece procesos de reepitelización. Dichos estudios no resultan concluyentes y mencionan casos aislados de reacciones adversas a

su uso, especialmente de tipo alérgico. En nuestro estudio no se observó formación de escara, eritema o edema, hecho que puede relacionarse con la vía de administración del extracto y el tipo de sustancias obtenidas con la extracción etanólica, lo cual indica seguridad en el uso del extracto evaluado por vía tópica (62).

Ante los avances obtenidos en el estudio de cada una de estas plantas y sus diferentes extractos, pese a que la literatura nos indica un sin número de datos que apoyan su valor terapéutico, los estudios publicados en ciencias básicas que apoyan su inocuidad y seguridad para el uso en salud humana, son escasos, de ahí que los resultados de este estudio con respecto a los aceites esenciales y extractos de las plantas, así como los obtenidos de la base que se constituye en el vehículo y medio químico que detendría la penetración del agente cáustico a profundidad en piel, mecanismo sobre el cual se establece fisiopatológicamente este tipo de quemaduras (63), ayudan a fundamentar su uso como alternativa terapéutica en el manejo de patologías de piel con impacto en salud pública, dentro de las que se encuentran las quemaduras cáusticas.

Sin embargo, es importante asociar el desarrollo de otras investigaciones que permitan comprender su efecto terapéutico sistémico y local en modelos de quemaduras cáusticas estandarizados, a fin de poder escalar la investigación hacia estudios clínicos que lleven a concluir acerca de su uso médico en el manejo agudo de este tipo de lesiones.

Agradecimientos

Por su colaboración en la ejecución de este estudio a la Fundación Universitaria Juan N. Corpas y al Centro de Investigación de la Institución; a las señoras Diana Rodríguez y Yaneth Castro, responsables del cuidado del Bioterio; a la Ingeniera Carol Zuluaga por su ayuda en el diseño de instalaciones para alojamiento de los animales; al Señor Juan Carlos Pinto encargado del mantenimiento de Instalaciones eléctricas y sistema de ventilación de la institución; al señor Gustavo Muñoz responsable del mantenimiento y cuidado del Jardín medicinal Jorge Piñeros Corpas.

Referencias Bibliográficas.

1. Moctezuma LE, Jiménez S, Miguel KD, Foncerrada G, Sánchez AY, González NA, et al. Epidemiología de las quemaduras en México. *Rev Esp Méd Quir*. 2015;20:78-82.
2. Castillo P. Quemaduras. Conceptos para el médico general. *Cuad Cir*. 2003;17(1):58-63.
3. Ramírez CE, Ramírez CE, González LF, Ramírez N, Vélez K. Fisiopatología del paciente quemado. Revisión de tema. *Salud UIS*. 2010;42:55-65.
4. Téllez J. Agentes cáusticos y corrosivos [internet]. [Consultado 10 de octubre de 2016]. Disponible en: <https://issuu.com/nasajpg/docs/agentescasusticoscorrosivos>.
5. García, R. Quemaduras. En: García A, Pardo G. Libros de autores cubanos. Cirugía. Tomo II [internet]. Ciudad de la Habana. Editorial Ciencias médicas; 2005 [consultado 2016 oct 26]. Disponible en: <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0cirugia--00-0---0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-es-50---20-help---00-0-1-00-0-0-11-1-0utfZz-8-00&a=d&c=cirugia&cl=CL1&d=HASH4d8a36cd18d1434dff47a8.4.10>.
6. Jaimes SL, Ramírez MA, Ramírez CE. Caracterización de las quemaduras por sustancias químicas en el Hospital Universitario de Santander, Bucaramanga, Colombia, entre 2009 y 2014. *MéD. UIS*. 2016;29(1):11-6.
7. Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Boletín epidemiológico: Violencia de Género en Colombia. Análisis comparativo de las cifras de los años 2014, 2015 y 2016 [internet]. [Consultado 2017 Febrero 5]. Disponible en: <http://www.medicinalegal.gov.co/documents/88730/4023454/genero.pdf/8b306a85-352b-4efa-bbd6-ba5ffde384b9>.
8. Hardwicke J, Hunter T, Staruch R, Moiemmen N. Chemical burns-An historical comparison and review of the literature. *Burns*. 2012;38:383-387.
9. World Health Organization. Fact sheet N° 365 about burns. 2014. [Consultado 4 Julio 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/en/>.
10. World Health Organization. Proyecto de plan de acción mundial sobre la violencia. 69.ª Asamblea Mundial de la Salud [internet]. [Consultado 15 enero de 2017]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/253016/1/A69_9-sp.pdf?ua=1.
11. Congreso de la República de Colombia. Ley 1639, Diario oficial 48839, (2-07- 2013).
12. Ministerio de Salud y Protección social. Decreto 1033. Diario Oficial 49167, (29-05 - 2014).
13. Ministerio de Salud y Protección social. Resolución 4568. Diario Oficial No. 49.325, (16-10-2014).
14. Instituto Nacional de Salud y Ministerio de Salud y Protección social. Violencia de género. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública [internet]. [Consultado 17 enero de 2016]. Disponible en: http://www.ipsunipamplo-na.com/es/images/sampledata/sivigila_2015/protocolos_epidemiologicos/PRO%20Violencia%20contra%20la%20mujer.pdf.
15. Schwartz RJ, Chirino CN, Sáenz SV, Rodríguez TV. Algunos aspectos del manejo del paciente quemado en un servicio de cirugía infantil a propósito de 47 pacientes pediátricos. Ila Parte. *Rev Argent Dermatol* 2008; 89: 165-173.
16. Berrocal M, Guette AM, Rodriguez P, Rodríguez G, Ruiz MA, Salgado EJ. Paciente quemado: manejo en urgencias y reanimación. *Rev.cienc. biomed*. 2011;2(2):316-326.
17. Hall A, Maibach H. Water decontamination of chemical skin/eye splashes: a critical review. *Cutan Ocul Toxicol*. 2006;25(2):67-83.
18. Mathieu L, Burgher F, Blomet J. Comparative evaluation of the active eye and skin chemical splash decontamination solutions Diphoterine and Hexafluorine with water and other rinsing solutions: Effects on burn severity and healing. *Chem Health Saf*. 2007;114:1-8.
19. Zack-Williams S.D.L., Ahmad Z, Moiemmen N.S. The clinical efficacy of diphoterine® in the management of cutaneous chemical burns: a 2 year evaluation study. *Annals of Burns and Fire Disasters*. 2015;XXVIII(1):9-12.
20. Chandran PK, Kuttan R. Effect of *Caléndula officinalis* Flower extract on acute phase proteins, antioxidant defense mechanism and granuloma formation during thermal burns. *J. Clin. Biochem. Nutr*. 2008;43:58-64.

21. Zitterl-Eglseer K1, Sosa S, Jurenitsch J, Schubert-Zsilavecz M, Della Loggia R, Tubaro A, et al. Anti-oedematous activities of the main triterpenoid esters of marigold (*Caléndula officinalis* L.). *J Ethnopharmacol.* 1997;57(2):139-44.
22. Maenthaisong R, Chaiyakunapruk N, Niruntraporn S, Kongkaew C. The efficacy of aloe vera used for burn wound healing: a systematic review. *Burns.* 2007;33(6):713-8.
23. Ferraro GM. Revisión de la Aloe vera (*Barbadensis miller*) en la dermatología actual. *Rev Argent Dermatol* 2009; 90: 218-223.
24. Tubaro A, Giangaspero A, Sosa S, Negri R, Grassi G, Casano S, Della Loggia R, Appendino G. Comparative topical anti-inflammatory activity of cannabinoids and cannabivarin. *Fitoterapia.* 2010 Oct;81(7):816-9.
25. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals [internet] [Consultado 10 de enero 2018]. Disponible en: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>.
26. Davidson EC. The treatment of acid and alkali burns. *Ann. Surg.* 1927;LXXXV(4):481-489.
27. Zawacki BE, Jones RJ. Standard depth burns in the rat: the importance of the hair growth cycle. *Br J Plast Surg.* 1967;20(4):347-54.
28. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animal Research. *Guide for the Care and Use of Laboratory animals.* 8 ed. [internet]. Washington, D.C.: The National academic press; 2011 [Consultado 2017 febrero 5]. Disponible en: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>.
29. Universidad de Vigo-Facultad de Biología. Atlas de histología vegetal y animal: Tegumento [internet]. [Consultado 16 febrero 2017]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/imagenes-grandes/tegumento-piel-fina.php>.
30. Santos M. Curso: Animal de experimentación como reactivo biológico en investigación, diagnóstico y control de fármacos [internet]. [Consultado 11 marzo 2017]. Disponible en: http://www.urbe.fmed.edu.uy/cursos/animales_experimentalion/Roedores%20de%20laboratorio.pdf.
31. Goertz O1, Popp A, Kolbenschlag J, Vogelpohl J, Daigeler A, Ring A, et al. Intravital pathophysiological comparison of acid- and alkali-burn injuries in a murine model. *J Surg Res.* 2013;182(2):347-352.
32. Kim J1, Weibel TJ, Carter EJ, Calobrace MB, Foldi JF, Zawacki BE. A standard experimental 'chemical burn'. *Burns.* 1994;20(3):200-1.
33. National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.* 8ª ed. Washington. The National Academies Press; 2011.
34. Sharapin N. *Fundamentos de Tecnología de productos fitoterapéuticos.* Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. CYTED. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello;2000.
35. National Institutes of Health (NIH). Animal study proposal [internet]. [Consultado 2016 noviembre 24]. Disponible en: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/sampledoc/oacu3040-2.pdf>.
36. Navarro JA, Ramirez RA, Villagrán C. *Manual de Procedimientos recomendables para la investigación con animales.* [internet]. México: SAM-SARA; 2012 [consultado 2016 Julio 9]. Disponible en: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/static/profesionalesSalud/investigacionSalud/cbis/manualprocedimientosanimales.pdf>.
37. OECD. Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4* [internet]. Paris. 2015 [Consultado 2016 Julio 8]. Disponible en: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9715231e.pdf?expires=1468119731&id=id&accname=guest&checksum=ABA9EAB46472B2C892BC7377E5E336A>
38. Parente LM, Lino Júnior Rde S, Tresvenzol LM, Vinaud MC, de Paula JR, Paulo NM. Wound Healing and Anti-Inflammatory Effect in Animal Models of *Caléndula officinalis* L. Growing in Brazil. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012;2012:375671.
39. Fundación para la Investigación y el desarrollo de la salud. *Investigación Traslacional: Aprendiendo a escuchar* [internet]. [Consultado 2018 junio 15]. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/especial/article/view/1473/1521>.
40. Morgia G, Russo GI, Urzi D, Privitera S, Castelli T, Favilla V, Cimino S. A phase II, randomized, single-blinded, placebo-controlled clinical trial on the efficacy of Curcumina and *Caléndula* suppositories for the treatment of patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome type III. *Arch Ital Urol Androl.* 2017 Jun 30;89(2):110-113.
41. Saini P, Al-Shibani N, Sun J, Zhang W, Song F, Gregson KS, Windsor LJ. Effects of *Caléndula officinalis* on human gingival fibroblasts. *Homeopathy.* 2012 Apr;101(2):92-98.
42. Calvo MI, Cavero RY. Medicinal plants used for ophthalmological problems in Navarra (Spain). *J Ethnopharmacol.* 2016 Aug 22;190:212-218.
43. Ukiya M, Akihisa T, Yasukawa K, Tokuda H, Suzuki T, Kimura Y. Anti-inflammatory, anti-tumor-promoting, and cytotoxic activities of constituents of marigold (*Caléndula officinalis*) flowers. *J Nat Prod.* 2006;69(12):1692-1696.
44. Verma PK, Raina R, Sultana M, Singh M, Kumar P. Total antioxidant and oxidant status of plasma and renal tissue of cisplatin-induced nephrotoxic rats: protection by floral extracts of *Caléndula officinalis* Linn. *Ren Fail.* 2016;38(1):142-150.
45. Dey S, Sarkar M, Giri B. Anti-inflammatory and Anti-tumor Activities of Parthenolide: An Update. *J Chem Biol Ther.* 2016;1(2):107-112.
46. Agatonovic-Kustrin S, Babazadeh Ortakand D, Morton DW, Yusof AP. Rapid evaluation and comparison of natural products and antioxidant activity in *Caléndula*, feverfew, and German chamomile extracts. *J Chromatogr A.* 2015;1385:103-110.
47. Wyganowska-Swiatkowska M, Urbaniak P, Szkaradkiewicz A, Jankun J, Kotwicka M. Effects of chlorhexidine, essential oils and herbal medicines (*Salvia*, *Chamomile*, *Caléndula*) on human fibroblast in vitro. *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(2):125-131.
48. Mishra AK, Mishra A, Verma A, Chattopadhyay P. Effects of *Caléndula* Essential Oil-Based Cream on Biochemical Parameters of Skin of Albino Rats against Ultraviolet B Radiation. *Sci Pharm.* 2012 Jul-Sep;80(3):669-683.
49. Mishra A, Mishra A, Chattopadhyay P. Assessment of In vitro Sun Protection Factor of *Caléndula Officinalis* L. (*Asteraceae*) Essential Oil Formulation. *J Young Pharm.* 2012 Jan;4(1):17-21.
50. García-Risco MR, Mouhid L, Salas-Pérez L, López-Padilla A, Santoyo S, Jaime L, et al. Biological Activities of *Asteraceae* (*Achillea millefolium* and *Caléndula officinalis*) and *Lamiaceae* (*Melissa officinalis* and *Origanum majorana*) Plant Extracts. *Plant Foods Hum Nutr.* 2017 Mar;72(1):96-102.
51. Tabandeh MR, Oryan A, Mohammadalipour A. Polysaccharides of Aloe vera induce MMP-3 and TIMP-2 gene expression during the skin wound repair of rat. *Int J Biol Macromol.* 2014 Apr;65:424-430.
52. Farzadinia P, Jofreh N, Khatamsaz S, Movahed A, Akbarzadeh S, Mohammadi M, Bargahi A. Anti-inflammatory and Wound Healing Activities of Aloe vera, Honey and Milk Ointment on Second-Degree Burns in Rats. *Int J Low Extrem Wounds.* 2016 Sep;15(3):241-247.
53. Takzaree N, Hadjiakhondi A, Hassanzadeh G, Rouini MR, Manayi A, Zolbin MM. Transforming growth factor- β (TGF- β) activation in cutaneous wounds after topical application of aloe vera gel. *Can J Physiol Pharmacol.* 2016 Dec;94(12):1285-1290.
54. López-Jaramillo P, Pradilla LP, Bracho Y, Silva F. The endocannabinoid system and its relation with central obesity and metabolic syndrome: therapeutic implications. *Rev. Col. Cardiol.* 2005;12:113-121.

55. Baron EP. Comprehensive Review of Medicinal Marijuana, Cannabinoids, and Therapeutic Implications in Medicine and Headache: What a Long Strange Trip It's Been. *Headache*. 2015 Jun;55(6):885-916.
56. Devane WA, Dysarz FA 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*. 1988 Nov;34(5):605-613.
57. Grotenhermen F. Los cannabinoides y el Sistema endocannabinoide. *Cannabinoids*. 2006;1(1):10-14.
58. Maccarrone M, Bab I, Bíró T, Cabral GA, Dey SK, Di Marzo V, et al. Endocannabinoid signaling at the periphery: 50 years after THC. *Trends Pharmacol Sci*. 2015;36(5):277-296.
59. Dhadwal G, Kirchhof MG. The Risks and Benefits of Cannabis in the Dermatology Clinic. *J Cutan Med Surg*. 2018;22(2):194-199.
60. Oka S, Wakui J, Ikeda S, et al. Involvement of the cannabinoid CB2 receptor and its endogenous ligand 2-arachidonoylglycerol in oxazolone-induced contact dermatitis in mice. *J Immunol*. 2006;177:8796-8805.
61. Stander S, Reinhardt HW, Luger TA. Topical cannabinoid agonists. An effective new possibility for treating chronic pruritus [in German]. *Hautarzt*. 2006;57:801-807.
62. Wang LL, Zhao R, Li JY, et al. Pharmacological activation of cannabinoid 2 receptor attenuates inflammation, fibrogenesis, and promotes re-epithelialization during skin wound healing. *Eur J Pharmacol*. 2016;786:128-136.
63. Palao R, Monge I, Ruiz M, Barret JP. Chemical burns: Pathophysiology and treatment. *Burns*. 2010;36: 295–304.

Vildagliptina en pacientes diabéticos tipo 2 con riesgo cardiovascular o compromiso renal. Revisión de literatura.

Víctor Hugo Forero Supelano¹, Gabriel German Ribón Quintero², Jairo Echeverry-Raad³

¹ Medicina Familiar Integral, Magister Epidemiología Clínica – Profesor Titular Fundación Universitaria Clínica Juan N. Corpas. Dirección Investigación Clínica Juan N. Corpas.

² Médico Internista, Medical Manager Cardiovascular y Metabólica, Novartis Andina.

³ Profesor Titular Facultad de Medicina Univesridad Nacional de Colombia. Docente Investigador Fundación Universitaria Juan N. Corpas.

Autor de correspondencia:
Víctor Hugo Forero Supelano. victor.forero@juanncorpas.edu.co

Como citar: Forero VH, Ribon GG, Echeverry-Raad J. Vildagliptina en pacientes diabéticos tipo 2 con riesgo cardiovascular o compromiso renal. Revisión de literatura. Revista Cuarzo 2018;24 (1) 28-45.

Recibido: 21 de mayo de 2018
Aceptado: 25 de junio de 2018
Publicado: 30 de junio de 2018

Fuente ayuda

La presente revisión de literatura da continuidad a la Revisión Sistemática (literatura gris) de 19 ECCAs publicados entre 2008 y 2015 sobre efectividad y seguridad con el DPP-4I vildagliptina en diabetes mellitus tipo 2, que derivó en proceso continuado (living review), de análisis crítico de evidencias promovido y soportado por Novartis SA.

La interpretación de los datos y los puntos de vista que sobre los mismos expresamos los autores son de nuestra entera responsabilidad.

Resumen

Introducción: los fármacos que se prescriben comúnmente para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) tienen restricciones de uso en pacientes con deterioro cardiovascular o renal. Estudios publicados sobre el grupo farmacológico inhibidores de dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4I) indican que se trata de agentes efectivos y seguros para su uso en esta población de pacientes. Sin embargo, en la práctica clínica cotidiana, prevalecen vacíos e incertidumbre respecto de la efectividad y seguridad para prescribir apropiadamente los DPP-4I, específicamente en pacientes en quienes concurre el riesgo o presencia de enfermedad cardiovascular o renal.

Esta revisión de literatura integra estudios publicados entre 2015-2018, en seguridad, eficacia y uso de vildagliptina para pacientes con DM2 en riesgo incrementado de eventos o presencia de enfermedad cardiovascular, función renal comprometida, o ambos.

Método: revisión de literatura publicada desde 01-01-2015 a 31-05-2018, enfocada en seguridad, eficacia y uso de vildagliptina en pacientes adultos con DM2 en riesgo de evento o presencia de enfermedad cardiovascular o con compromiso de la función renal, o ambos.

Resultados: conjunto de evidencias de tres estudios de vida, seis ECCA, dos meta-análisis en red, nueve revisiones sistemáticas y tres estudios observacionales integran la unidad de análisis que presenta en síntesis narrativa desenlaces de efectividad y seguridad del DPP-4I vildagliptina en el contexto de pacientes diabéticos con riesgo cardiovascular y compromiso de función renal.

Conclusión: esta revisión reitera la trascendencia de intervenciones integrales, efectivas y seguras, para el control metabólico en personas con DBT, específicamente para pacientes en quienes concurre enfermedad cardiovascular, deterioro de función renal, y esquemas combinados con hipoglucemiante oral. En este contexto vildagliptina reúne valiosa evidencia de efectividad y seguridad que permite apoyar decisiones clínicas sustentadas. A destacar los beneficios para pacientes de edad avanzada, grupo especialmente frágil y vulnerable a eventos cardiovasculares.

Palabras clave: Diabetes mellitus, efectividad, seguridad, riesgo cardiovascular, vildagliptina.



Vildagliptin in diabetic type 2 patients with cardiovascular risk or renal impairment. Review of the literatura

Abstract

Introduction: Commonly prescribed agents for the treatment of type 2 diabetes (T2DM) have restrictions on use in patients with cardiovascular or renal function impairment. Published studies on dipeptidyl peptidase-4 inhibitors (DPP-4I) indicate that these agents are suitable for use in this patient population. However, in everyday clinical practice, uncertainties prevail regarding the effectiveness and safety of appropriately prescribing the DPP-4I, specifically in patients in whom the risk or presence of cardiovascular or renal disease is present.

This literature review integrates studies published between 2015 -2018 on safety, efficacy and use of vildagliptin in patients with DM2 at risk of events or cardiovascular disease, impaired renal function, or both.

Method: literature review that extends from 01-01- 2015 to 31-05- 2018, focuses on the safety, efficacy and clinical use of vildagliptin in adult patients with DM2 at risk of event, or cardiovascular disease, or impaired renal function, or both.

Results: three real world data studies, six ECCA, two network meta-analyses, nine systematic reviews, and three observational studies integrate the unit of analysis that presents in narrative synthesis on the effectiveness and safety of the DPP-4I vildagliptin in the context of diabetic patients with cardiovascular risk and impaired renal function.

Conclusion: this review reiterates the transcendence of comprehensive, effective and safe interventions for metabolic control in people with DBT, specifically for patients in whom cardiovascular disease, deterioration of renal function, and combined schemes with oral hypoglycemia. In this context vildagliptin gathers valuable evidence on effectiveness and safety that allows supporting sustained clinical decisions. To highlight the benefits for elderly patients, a particularly fragile group and vulnerable to cardiovascular events.

Keywords: Diabetes mellitus, efficacy, safety, cardiovascular risk, vildagliptin

Introducción

Común, crónica y con impacto negativo en la calidad de vida y sobrevida son aspectos que caracterizan a la diabetes mellitus (DBT). Se calcula que habrá cerca de 642 millones de personas con diabetes en 2040. Particularmente durante las dos últimas décadas crece evidencia confirmando que, junto al infarto agudo de miocardio y diversas manifestaciones ateroscleróticas, la falla cardíaca es un problema de morbilidad y mortalidad preponderante en los pacientes con DBT.

Entre los estudios más sobresalientes para determinar la relación entre DBT y enfermedad cardiovascular – falla cardíaca – está la cohorte retrospectiva Kaiser Permanente Northwest database (1) con 8231 pacientes diabéticos sin falla cardíaca, emparejados por edad y sexo con 8845 sujetos no diabéticos. En el seguimiento de 6 años, la incidencia de falla cardíaca en el grupo de diabéticos fue de 30.9/100.000 personas año, versus 12.4/100.000 personas año en el grupo de no diabéticos.

Algo más, el compromiso de la función renal en los pacientes diabéticos es la principal causa de enfermedad renal crónica (2,3); lo que a su vez incrementa el riesgo de eventos cardiovasculares y muerte asociada; no obstante los beneficios de la insulino terapia y demás intervenciones en procura del mejoramiento y recuperación posible de la salud de esta población. Así es que concurren; entre otros factores no menos importantes, el

desorden metabólico, la enfermedad cardiovascular y el compromiso renal configurando el espectro de comorbilidad y riesgos superpuestos a la ya deteriorada calidad de vida en una persona con diabetes.

En este contexto resulta obligado analizar las evidencias existentes respecto de las implicaciones fármaco-terapéuticas para todos los grupos de medicamentos dirigidos al control metabólico en DBT.

En los últimos años, los inhibidores de dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4I), han integrado al conjunto de opciones terapéuticas de los hipoglucemiantes orales, entre otras razones, gracias a su efecto sobre la dipeptidil peptidasa 4 (DPP4), enzima multifuncional que puede inactivar las incretinas, incluido el glucagón péptido 1 (GLP-1) y péptido inhibidor gástrico (GIP), para privar sus efectos anti-hiperglucemiantes (4). Cuando se usan inhibidores de DPP-4I, el conjunto disponible de GLP-1 activo y GIP puede ser restaurado disponiendo a un control glucémico que se ejerce de manera dependiente de la glucosa. Vildagliptina, potente y selectivo inhibidor de DPP4, promueve y facilita el control glicémico al aumentar la disponibilidad de incretinas endógenas, potencia la secreción de insulina dependiente de la glucosa y suprime la liberación de glucagón.

Específicamente para vildagliptina en monoterapia y en combinación (add-on) con metformina, o asociada a otros hipoglucemiantes orales y con insulina, se destacan numerosos estudios de

comprobada efectividad y seguridad (5-11), evidencia que se ha incorporado a las recomendaciones en guías de práctica clínica en DM2 (12).

Esta revisión integra y sintetiza evidencias, publicadas desde 2015 a 2018, con el propósito de analizar eficacia y seguridad del DPP-4I; vildagliptina, en comparación con otros hipoglucemiantes orales en adultos con diabetes mellitus tipo 2 (DM2), con comorbilidad cardiovascular, renal o ambas. Igualmente presenta información relacionada con el uso concurrente de vildagliptina en pacientes bajo tratamiento con insulina.

Método

Bajo lineamientos de revisión rápida-(Rapid Review) (13,14); modelo que permite reducir el tiempo que demanda el proceso metodológico regular de revisión sistemática (RS), y no obliga al intento sumario meta-analítico, los estudios fueron cualificados para exponerlos de manera independiente pero integrativa, de lo que deriva una síntesis narrativa de evidencias en efectividad (niveles de HbA1c alcanzada) y seguridad (eventos hipoglucémicos, eventos cardiovasculares) por comparaciones del DPP-4I vildagliptina en el tratamiento de DM2 en personas de 18 años o más y en quienes coexiste alguna de las siguientes condiciones: enfermedad cardiovascular – riesgo cardiovascular - compromiso de función renal (cualquier grado), pacientes en insulino-terapia.

La estrategia de búsqueda incluyó términos texto libre y MeSH que se combinaron para “diabetes mellitus, type2”, “renal disease”, “chronic kidney disease”, “renal failure”, “albuminuria”, “renal impairment”, “heart failure”, “cardiovascular risk”, “myocardial infarction”, junto con “DPP-4 inhibitor”, “gliptin”, “vildagliptin”, “efficacy”, “safety”. Extendidos con límites período enero 01-2015 a diciembre 31-2018, idioma Inglés y español, para ensayos clínicos controlados (ECCA), y estudios agregativos. Última consulta 31-05-18.

Ante los reiterados cuestionamientos sobre la transferibilidad de resultados de los ECCA a la práctica clínica; concretamente por el estricto criterio de selección de pacientes y el relativamente corto tiempo de seguimiento que pudiere haber en algunos estudios, fueron analizados e incluidos; en función de su calidad, estudios de vida real (Real World Data).

Las bases de datos utilizadas fueron MEDLINE/PUBMED (Plataforma OVID), EMBASE (Plataforma EBSCOhost - Elsevier), Clinical Trials (Clinical Trials.gov, OVID), Cochrane Database of Systematic Reviews (Plataforma Wiley).

En la valoración de la calidad de las RS que incluyesen estudios randomizados y no-randomizados nos apoyamos en los 16 criterios AMSTAR-2 (15). Para estudios primarios seguimos los lineamientos de evaluación crítica y metodológica de los ensayos clínicos de Downs y Black (16), herramienta con lista de verificación probadamente confiable en la valoración de calidad,

validez interna y externa, tanto para ECCAs como para estudios no aleatorizados.

Luego de realizar la búsqueda de información en las bases de datos con los criterios predefinidos, filtramos y seleccionamos los estudios con base en los siguientes elementos de juicio:

- Estudios en los que fuese evidente y verificable la minimización de sesgos: enmascaramiento, declaración de conflictos, revisión por pares y accesibilidad.
- Desenlace atribuible al efecto de la intervención (control de variables de confusión): aleatorización y asignación a grupo intervención y grupo comparador, mayor tiempo de observación y seguimiento a los desenlaces de efectividad y seguridad, significancia clínica y estadística, especial atención en diferencias clínicamente importantes
- Representatividad de los grupos de pacientes incluidos en los estudios: verificación de criterios de inclusión-exclusión, características generales de la población, potencial para la transferencia de los resultados a la práctica clínica en contextos fuera de proceso de investigación. Consistencia entre el conjunto de evidencias.
- Reproducibilidad de la magnitud y direccionalidad los estimadores para los desenlaces dentro de los diferentes estudios.

Resultados

Un conjunto de 23 estudios en total: 3 estudios de vida real, 6 ECCA, 2 Meta-análisis en red, 9 revisiones sistemáticas y 3 estudios observacionales componen la unidad de análisis final. El ordenamiento en la presentación y síntesis obedece a la fecha descendente de publicación; con independencia del tipo de estudio.

Por considerarlo relevante y conveniente. hemos aprovechado datos provenientes ECCAs publicados con posterioridad a 2008 y antes de 2015 junto a los cuales es posible contrastar y realizar análisis de efectividad y seguridad de vildagliptina en riesgo cardiovascular o disfunción renal cuando se el caso. Lo mismo aplica con aquellos estudios de vida real para identificar cuán cercanos o distantes pudieren ser los resultados de efectividad reportados en los ECCA.

Para brindar un contexto general de los resultados de efectividad – cambio HbA1c – y seguridad con vildagliptina; exponemos en primer lugar el sumario de 4 estudios sin restricción o especificación a riesgo cardiovascular, compromiso de función renal o tratamiento con insulina. Posteriormente queda expuesta una síntesis de 10 estudios que evaluaron efectividad y seguridad de vildagliptin en pacientes con DM2 en el contexto de riesgo cardiovascular, 3 estudios en pacientes DM2 con compromiso de función renal y finalmente 6 estudios relacionados con los desenlaces de efectividad y seguridad de vildagliptina mas insulina.

Contexto general de los resultados de efectividad – seguridad con vildagliptina

Cohen 2018 (17) - Estudio de vida real en 345 pacientes en tratamiento con metformina, sin control óptimo y en quienes se evaluó el resultado de adicionar vildagliptina para control metabólico a 90 días y el efecto en peso corporal.

Las características generales de los pacientes incluidos en el análisis corresponden a personas con edad media de 60 años, con diabetes de más de 10 años de evolución para la tercera parte de la población, 58% hombres.

En media, la hemoglobina glucosilada (HbA1c) fue 0.9% menor de manera clínicamente significativa (IC95 % -0.7 - -1.0%), y asociada de manera directa con la hemoglobina glucosilada basal.

Estos resultados de vida real son semejantes a los reportados en el análisis pos-hoc del ECCA que comparó la adición de vildagliptina versus sulfonilureas a metformina en pacientes en quienes no se lograba control metabólico (18).

Wang 2017 (19) - Meta-análisis en red- permite comparar en forma simultánea diferentes intervenciones- de 8 ECCAs. Este estudio reunió 3180 pacientes para identificar el cambio en HbA1c, los niveles de triglicéridos y eventos adversos entre 7 esquemas diferentes: (placebo + metformina), (dapagliflozina + metformina), (vildagliptina + metformina), (saxagliptina + metformina), (empagliflozina + metformina), (exenatida + metformina) y (sitagliptina + metformina).

Los desenlaces comparados entre las diferentes combinaciones son expuestos en la tabla 1 Wang 2017

Tabla 1. Wang 2017- Cambio en HbA1c, glucemia, lípidos, peso corporal

Comparación	(IC95%)
Vildagliptina + Metformina vs Placebo + Metformina	
-HbA1c - %	-1.95 (-3.70 - -0.23)
-Glucemia en ayuno - mml/L	-2.42 (-5.29 - 0.27)
-Triglicéridos - mml/L	-0.70 (-1.62 - 0.23)
-Cambio en peso corporal – Kg.	-0.24 (-3.31 - 2.57)
Vildagliptina + Metformina vs Dapagliflozina + Metformina	
-HbA1c %	-1.43 (-3.63 - 0.59)
-Glucemia en ayuno - mml/L	-1.38 (-4.81 - 1.93)
-Triglicéridos ml/L	-0.73 (-5.41 - 3.87)
-Cambio en peso corporal– Kg	1.63 (-2.62 - 6.14)
Vildagliptina + Metformina vs Exenatide + Metformina	
-HbA1c %	-1.55 (- 4.13- 0.93)
-Glucemia en ayuno - mml/L	-2.11 (-6.16 - 1.80)
-Triglicéridos ml/L	-1.36 (-2.64 - -0.01)
-Cambio en peso corporal– Kg	No dato
Vildagliptina + Metformina vs Sitagliptina + Metformina	
-HbA1c %	-1.32 (-3.79- 1.21)
-Glucemia en ayuno - mml/L	-1.13 (-5.15 - 2.69)
-Triglicéridos ml/L	No dato
-Cambio en peso corporal– Kg	No dato

IC: intervalo de confianza

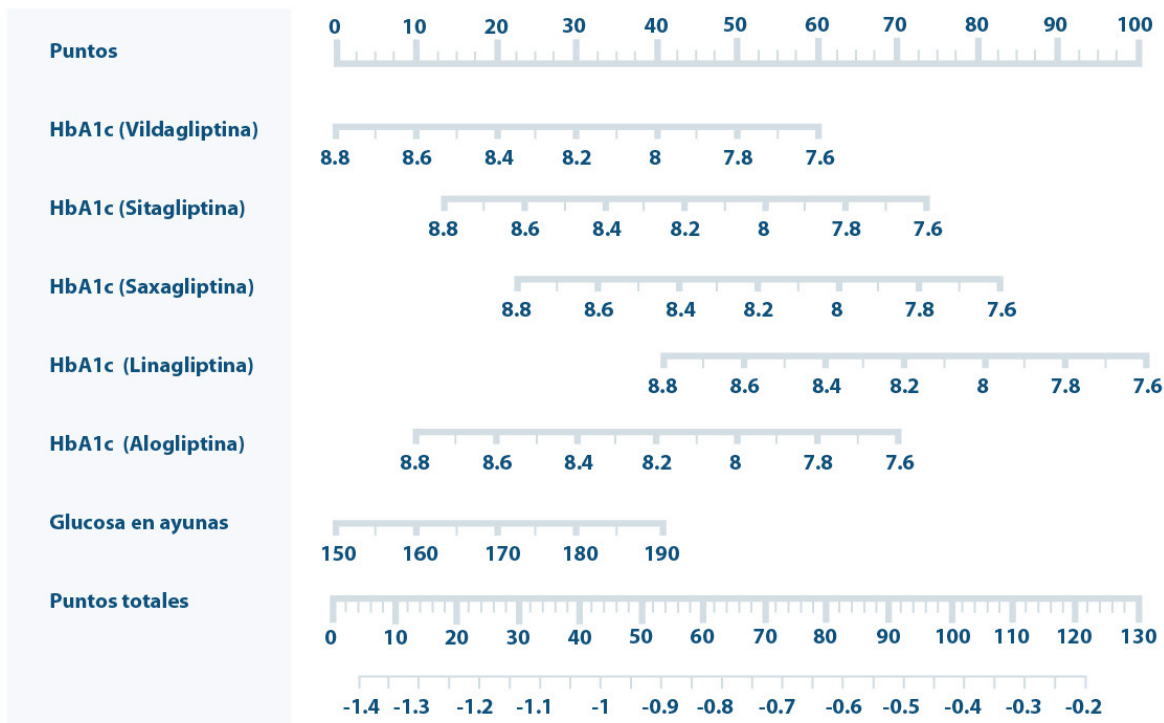
Con base en las comparaciones realizadas para siete esquemas terapéuticos este estudio identifica, en los valores de la superficie bajo la curva - surface under the cumulative ranking curve - (SUCRA), a la combinación vildagliptina+metformina con el mayor puntaje de control metabólico global. Se ubica como primera opción en reducción de HbA1c con valor 0.96, para control de glucemia en ayuno 0.91, para control colesterol total 0.91, triglicéridos 0.88 y en tercer lugar para control de peso 0.50, datos en tabla 2 Wang 2017.

Tabla 2. – Wang 2017 -Valores de la superficie bajo la curva DPP-4I

Combinación	HbA1c	Glucemia ayuno	Colesterol	Triglicéridos	Control de peso
Placebo + Metformina	0.27	0.31	0.58	0.62	0.42
Dapaglifozina + Metformina	0.59	0.63	0.55	0.62	0.79
Vildagliptina + Metformina	0.96	0.91	0.91	0.88	0.50
Saxagliptina + Metformina	No dato	No dato	No dato	No dato	No dato
Empaglifl. + Metformina	No dato	No dato	No dato	No dato	No dato
Exenatide + Metformina	0.51	0.43	0.45	0.37	0.78
Sitagliptina + Metformina	0.65	0.69	No dato	No dato	No dato

Esposito 2015 (20) - Revisión sistemática y meta-análisis de 78 ensayos clínicos, aporta evidencia para estimar los resultados esperados de cambio en HbA1c, gracias al nomograma (figura 1) construido con base en información obtenida en más de 24000 pacientes diabéticos tipo 2, y que permite estimar la efectividad comparativa entre diferentes opciones de DPP-4I.

Figura 1 (adaptada). Nomograma predictivo de eficacia en disminución de HbA1c comparativa entre los diversos DPP-4I.



Para utilizar el nomograma el primer paso es elegir uno de los inhibidores, identificar la HbA1c basal y la glucosa en ayunas. Desde esos puntos se proyectan líneas perpendiculares a la escala de puntos (superior). Sumar los valores que señalen las perpendiculares y ese valor proyectarlo sobre la escala de "Puntos totales" para encontrar el valor de HbA1c esperado por la administración de inhibidor DPP4 elegido.

Godoy 2015 (21) – Estudio de vida real en 115 chilenos adultos con DM2 para evaluar el control glicémico, seguridad y tolerancia a vildagliptina, quienes bajo tratamiento con combinación de dos hipoglucemiantes no habían logrado control óptimo.

Los niveles de HbA1c promedio basales fueron – en media - 8,3 ± 1,4%, luego de 12 semanas de tratamiento con vildagliptina la HbA1c descendió a 7,2 ± 1,1%. Previo al cambio a vildagliptina la proporción de pacientes con HbA1c <6,5 era 2% y HbA1c <7, era 15%.

Con vildagliptina dichas proporciones se incrementaron al 25% y 52% respectivamente, esto acompañado de reducción notable y clínicamente relevante respecto de los eventos de hipoglucemia: 22% cayó a 3% (p<0.00001), y a destacar dicha diferencia cuando se analiza para mayores de 60 años de edad en quienes bajo el tratamiento previo los episodios contabilizaron 28% versus 3% cuando recibieron vildagliptina, datos consistentes con los reportados en el estudio EDGE (22) , uno de los estudios con datos de vid real más completos por el número de pacientes -45.000-, de 27 países en cinco regiones.

Vildagliptina en riesgo cardiovascular

El debate sobre la seguridad cardiovascular con terapia basada en incretinas creció y fue más visible en el hallazgo inesperado de incremento de 27% en riesgo para hospitalización por insuficien-

cia cardíaca en el estudio SAVOR TIMI 53 (23). Esto, además de nutrir el debate, alentó la hipótesis de exacerbación o precipitación de falla cardíaca con los DPP-4I y motivó la búsqueda activa de desenlaces cardiovasculares adversos en pacientes que recibieran este grupo de hipoglucemiantes, para el efecto los estudios TECOS (sitagliptina) (24), EXAMINE (alogliptina) (25), CARMELINA (linagliptina) (26), VIVID (vildagliptina) (27), este último, a diferencia de los cuatro anteriores, se diseñó específicamente caracterizando los pacientes de acuerdo a la presencia (basal) de falla cardíaca o identificando el desarrollo de la falla cardíaca durante el seguimiento, además de determinar la función ventricular izquierda.

McMurray 2018 (27) - ECCA fase IV de No inferioridad - doble enmascarado en 254 adultos DBT 2, con fracción de eyección <40%, (en NYHA I-III), para evaluar como primer desenlace principal el efecto atribuible a vildagliptina (add-on tratamiento estándar) en la función ventricular izquierda (VIVID). En este estudio participaron 67 centros de 15 países.

La hipótesis evaluada en este estudio plantea que vildagliptina es al menos no inferior que placebo para el cambio en la fracción de eyección ventricular izquierda (punto de corte predefinido para no inferioridad -3.5%, p 0.025), desde basal a 52 semanas de observación. El segundo desenlace principal a evaluar fue el cambio en HbA1c a 16 semanas. Ver tablas 3 y 4 - McMurray 2018 a y b.

Tabla 3 - McMurray 2018 a - Desenlace para fracción de eyección y cambio en HbA1c

	Vildagliptina n 128 (%)	Placebo n 126 (%)	Diferencia % (IC 95%)
Cambio ajustado para la FE	4.95% ± 1.25	4.33% ± 1.23	0.62 (-2.21-3.44)*
Cambio en HbA1c			
-Semana 16		-0.62% (-0.30--0.90)†	-0.62% (-0.30--0.90)†
-Semana 52		-0.36% (-0.02--0.71)	-0.36% (-0.02--0.71)

*cumple criterio de no inferioridad -3.5% p< 0.025

† p 0.001 y 0.004 respectivamente.

FE: fracción de eyección, HbA1c: hemoglobina glucosilada, IC: intervalo de confianza

La clase funcional NYHA no presentó variaciones sustanciales en ninguno de los dos grupos y los ajustes de medicamentos para tratamiento de la falla cardíaca fueron realizados en el 26% y 24% para el grupo de vildagliptina y placebo respectivamente (p0.64).

Tabla 4 - McMurray 2018 b Eventos no fatales y muertes por causa cardiovascular y toda causa

	Vildagliptina n 128 (%)	Placebo n 126 (%)	Diferencia % (IC 95%)
Cualquier evento cardiovascular (fatal o no fatal)	35 (27.3)	31 (24.6)	2.7 (-9.5 – 15.0)
Evento vascular cerebral	1 (0.8)	4 (17.5)	0.5 (-11.9-12.7)
Empeoramiento de la falla	23 (18.0)	22 (17.6)	0.5 (-11.9-12.7)
Sind coronario agudo	7 (5.5)	3 (2.4)	3.1 (-9.5-15.4)
Arritmia	9 (7.0)	4 (3.2)	3.9 (-8.7-16.1)
Muerte causa cardiovascular	7 (5.5)	4 (3.2)	2.3 (-10.3-14.6)
Muerte toda causa	11 (8.6)	4 (3.2)	5.4 (-7.2-17.6)

Cuatro de las muertes que se presentaron en el grupo vildagliptina fueron por: neoplasia hepática, neoplasia pulmonar, choque séptico y obstrucción intestinal por fenómeno adherencial peritoneal.

Elgendy 2017 (28) -Revisión sistemática y meta-análisis con la que se aborda la controversial y, en algunos casos, contraria evidencia con la que distintos ECCAs exponen resultados relativos a la seguridad cardiovascular de los DPP-4I.

El estudio reúne evidencias de 66730 pacientes en 90 ECCAs de comparaciones realizadas entre DPP-4I y placebo cuyo desenlace principal a un tiempo medio de 108 semanas fue falla cardíaca representado por un OR 1.11; (IC95% 0.99–1.25) $I^2 = 0\%$. En segundo lugar evento cerebrovascular isquémico OR 0.99; (IC95% 0.85–1.15), no significativo, mortalidad por toda causa OR 1.03; (IC95% 0.94–1.12), y por causa cardiovascular OR 1.02; (IC95% 0.92–1.14), no significativo.

El análisis pre-especificado incluyendo solo aquellos estudios con alta calidad produjo resultados semejantes OR 1.13, (IC95% 0.99–1.28), $p = 0.07$, $I^2 = 27\%$.

Es interesante notar que en este meta-análisis sus autores atribuyen cualquier potencial incremento de riesgo para falla cardíaca a los datos que provienen del estudio que incluyó el DPP-4I saxagliptina SAVOR TIMI 53 (23), en el que se identificó; en análisis post hoc, que el incremento de 27 % del riesgo para hospitalización por insuficiencia cardíaca lo aportaron aquellos pacientes con niveles basales elevados de péptido natriurético, antecedente de falla cardíaca o enfermedad renal crónica.

Fadini 2017 (29) - Estudio observacional retrospectivo que aprovecha las propiedades de una base nacional italiana, sistematizada para propósitos de monitorización y análisis en el uso (vida real) de medicamentos para apoyar toma de decisiones.

Este estudio reúne información lograda en 127555 pacientes bajo tratamiento con DPP-4I en quienes se determinó bajo riesgo a hospitalización por falla cardíaca. Con base en dicha cohorte inicial se realiza análisis intraclase para 17615 pacientes quienes recibían sitagliptina (60%), vildagliptina (27%) y saxagliptina (13%) y se evaluó el riesgo para falla cardíaca en comparación con hipoglucemiantes del tipo sulfonilureas en monoterapia o en combinación con metformina.

En un período de observación de 2.2 años la incidencia de hospitalización por falla cardíaca fue 2.7 episodios por 1000 personas año en el grupo de sitagliptina, 1.7 episodios por 1000 personas año en el grupo de vildagliptina. En términos de número de eventos de hospitalización por falla cardíaca 4.0 eventos por 1000 personas año y 2.1 por 1000 personas año saxagliptina, vildagliptina respectivamente.

La información para el grupo de pacientes bajo tratamiento con sulfonilureas permite identificar tasa global de hospitalización por falla cardíaca de 6.4 eventos por 1000 personas año para quienes recibían glibenclamida y 5.3 por 1000 personas año en glimepirida. Las frecuencias de primera hospitalización por falla cardíaca en quienes recibieron glicazida y glimepirida 4.7 eventos por 1000 personas año y 4.0 por 1000 personas año respectivamente.

Guo 2017 (30) - Meta-análisis en red con 50 ECCA en pacientes con DBT 2, cuya intervención a evaluar/comparar fuese DPP-4I (alogliptina, linagliptina, sitagliptina, saxagliptina y vildagliptina) otros hipoglucemiantes orales (metformina, glipizida, gliclazida, glimepirida, canaglifozina, empaglifozina, pioglitazona, albiglutida, y liraglutida) o placebo para el desenlace de admisión por falla cardíaca.

Al analizar el riesgo de falla cardíaca de un DPP-4I contra placebo resulto significativamente mayor para alogliptina: RR 2.13;

(IC95% 1.06–6.26), con similar magnitud y direccionalidad con linagliptina RR 2.76; (IC95% 0.98–8.31), a diferencia de lo resultante para sitagliptina: RR 0.86; (IC95% 0.43–1.57), saxagliptina RR 0.84; (IC95% 0.33–1.61) y más bajo aún con vildagliptina: RR 0.71; (IC95% CI 0.25–1.68).

Al analizar el riesgo por comparación entre diferentes DPP-4I, es notable el menor riesgo con vildagliptina: alogliptina versus vildagliptina RR 3.05; (IC95% 1.01–14.19), linagliptina versus vildagliptina RR 3.95; (IC95% 1.07–17.45), sitagliptina versus vildagliptina RR 1.21; (IC95% 0.44–3.69) y saxagliptina versus vildagliptina RR 1.18; (IC95% 0.36–3.57). Frente a alogliptina

el análisis de resultados agrupados identifica a vildagliptina con el menor riesgo RR 0.33; (IC95% 0.07–0.99) le sigue sitagliptina RR 0.40; (IC 95% 0.11–0.96).

Ahora, al comparar con linagliptina, vildagliptina arrojó un RR 0.25; (IC95% 0.06–0.94), con sitagliptina RR 0.31; (IC95% 0.09–0.95), y con saxagliptina RR 0.30; (IC95% 0.07–0.97).

Vildagliptina registra la más alta probabilidad (49%) en la clasificación de opción segura en relación con menor riesgo asociado para falla cardíaca, seguida por saxagliptina (27%). El ordenamiento completo se aprecia en la tabla 5 Guo 2017.

Tabla 5- Guo 2017 Clasificación probabilidad terapéutica entre DPP-4I

DPP-4I	Clasificación de probabilidad terapéutica						
	1	2	3	4	5	6	7
Alogliptina	0.12%	0.43%	1.20%	4.86%	45.9%	27.1%	20.4%
Linagliptina	0.25%	0.72%	1.2%	2.9%	23.8%	24.6%	46.5%
Placebo	3.13%	16.9%	38.7%	38.9%	2.19%	0.07%	0%
Sitagliptina	20.7%	32.1%	26.1%	18.7%	2.1%	0.14%	0%
Saxagliptina	26.5%	28.4%	19.8%	20.8%	3.9%	0.33%	0.03%
Vildagliptina	49.1%	21.3%	12.9%	13.3%	2.7%	0.38%	0.05%

Williams 2017 (31) -Estudio de base poblacional, analítico, cohorte – datos de vida real - en 5 países de Europa (Alemania, Dinamarca, Francia, Reino Unido, Suecia) para evaluar y comparar vildagliptina (en monoterapia o en combinación con metformina) versus otros antidiabéticos orales en seguridad cardiovascular: infarto de miocardio, evento coronario agudo, evento cerebro-vascular, falla cardíaca (como eventos aislados) o en combinación (desenlace compuesto).

El 2,8 % de los pacientes (738054) registrados en la multi-base se encontraban bajo tratamiento con vildagliptina, bajo un tiempo de seguimiento de 1.4 años, lo cual resulta en una exposición acumulada a vildagliptina equivalente a 28330 pacientes año. En la tabla 6 Williams 2017 se resumen las tasas de riesgo para cada uno de los eventos cardiovasculares evaluados.

Tabla 6 - Williams 2017-Incidencia de riesgo cardiovascular vildagliptina comparada con otro antidiabético oral

	Vildagliptina versus otro Antidiabético oral				
	Incidencia ajustada (IC 95%)				
	IAM	ECA	ECV	FC	Comp
Alemania	0.78 (0.64-0.95)*	0.72 (0.60–0.88)	0.59 (0.50–0.70)*	0.72 (0.64–0.81)*	0.66 (0.59–0.73)*
Dinamarca	0.78 (0.36-1.70)	0.91 (0.44–1.90)	0.42 (0.16–1.12)	1.03 (0.59–1.77)	1.02 (0.69–1.50)
Francia	0.97 (0.16-5.83)	1.60 (0.29–8.81)	0.02 (0.00–0.12)	0.49 (0.28–0.85)	0.22 (0.10–0.47)*
Reino Unido	0.71 (0.39-1.30)	0.67 (0.38–1.21)	0.77 (0.45–1.34)	0.51 (0.27–0.95)	0.92 (0.67–1.27)
Suecia	0.61 (0.23-1.63)	0.55 (0.21–1.45)	0.15 (0.02–1.08)	0.61 (0.15–2.42)	0.69 (0.39–1.22)

* p<0.05. IAM= infarto agudo de miocardio, ECA= evento coronario agudo, ECV= evento vascular cerebral, FC= falla cardíaca, Comp= eventos cardiovasculares compuestos

La información respecto del riesgo cardiovascular que se extrae de esta base, datos de vida real, de 5 países en Europa es concordante con la reflejada en estudios primarios que han evaluado la asociación de riesgo cardiovascular con uso de vildagliptina y permite identificar un perfil de riesgo cardiovascular no incrementado para este DPP4-I.

Bekiarí 2016 (32) - Revisión sistemática de ECC (69 estudios 28006 pacientes) en eficacia y seguridad vildagliptina versus placebo u otro hipoglucemiante oral. En cuanto a los desenlaces de seguridad esta RS incluyó estudios que evaluaron eventos cardio- cerebro vascular, además de muerte de causa vascular.

De manera global, vildagliptina comparada con placebo demostró reducción (diferencia media ponderada), de niveles de HbA1c en 0.69%; (IC 95% 0.56-0.83).

La efectividad comparativa con el conjunto de otros hipoglucemiantes: metformina, sulfonilurea, α glucosidasa inhibidor, sitagliptina, pioglitazona, incluyendo insulina fue de 0.01%; (IC95% 0.16-0.14).

Los resultados de efectividad que representan, al menos, el 70% ponderado de las comparaciones y los desenlaces de seguridad cardiovascular sintetizados en la tabla 6 Bekiarí 2016.

Tabla 7 Bekiarí 2016 – Efectividad y desenlaces cardiovasculares

Vildagliptina versus placebo o comparador activo antidiabético oral			
Efectividad	Placebo	Metformina (19%)	Sulfonilurea (48%)
Reducción HbA1c %	-0.69 (-0.83--0.56)	0.14 (-0.38-0.66)	-0.05 (-0.21-0.11)
Posibilidad de lograr HbA1c <7% -	OR		
Vildagliptina sola	2.76 (1.27-6.00)		
Vildagliptina más metformina	2.67 (2.06-3.46)		
Vildagliptina más metformina versus comparador activo	0.89 (0.78-1.02)		
Seguridad	OR		
Incidencia de falla cardíaca	0.77 (0.46-1.30)		
Evento cardio-cerebro vascular	0.91 (0.73-1.14)		
Muerte de causa cardiovascular	1.23 (0.69-2.19)		

HbA1c: hemoglobina glucosilada, OR: odds ratio

Filion 2016 (33) - En la misma línea de los estudios observacionales, pero bajo diseño de caso control anidado, con alto poder representado en una cohorte integrada (1'499.650 pacientes) y tiempo de observación equivalente a 3 millones de personas año en Canadá, Estados Unidos y el Reino Unido, el grupo CNODES (Canadian Network for Observational Drug Effect Studies), buscó responder a la pregunta de si el uso de las incretinas (como grupo) comparadas con otros hipoglucemiantes orales en el tratamiento de DBT-2 incrementa riesgo de eventos cardiovascular no deseados, específicamente falla cardíaca.

La población – mayores de 18 años - en esta cohorte la integraron pacientes diabéticos que hubiesen recibido; además de

DPP-4I, otros antidiabéticos orales (biguanidas, sulfonilureas, tiazolidindionas, análogos GLP-1, alfa-glucosidasas inhibidores, meglitinidas, inhibidores de cotransportadores sodio-glucosa; solos o en combinación). Dos grupos fueron diferenciados dentro de la cohorte: pacientes con y sin falla cardíaca identificada (registro clínico) con anterioridad o en el mismo día de ingreso a la cohorte.

La tasa cruda – incidencia – fue de 9.2 eventos 1000 personas año para la totalidad de la cohorte. Ahora bien, para el grupo con falla cardíaca identificada previamente la incidencia fue de 43.5 eventos 1000 personas año y para el grupo sin falla previamente identificada fue 7.5 eventos 1000 personas año.

Al realizar el análisis para el grupo de pacientes sin historia de falla cardíaca y bajo tratamiento con incretina, comparando por quienes recibieron otro antidiabético, no hubo riesgo aumentado para admisión por insuficiencia cardíaca HR 0.82; (IC95% 0.67-1.00) Cuando se compara entre incretinas: DPP-4I versus análogos GLP-1, no hay diferencias en el riesgo HR 0.84 (IC95% 0.69 - 1.02) y HR 0.95 (IC95% 0.83 - 1.10) respectivamente.

De otra parte el riesgo de hospitalización por falla en los pacientes con historia de falla cardíaca y bajo tratamiento con incretina, comparando por quienes recibieron otro antidiabético no fue mayor: HR 0.86; (IC95% 0.62 - 1.19). Tampoco se identificaron diferencias entre DPP-4I versus análogos GLP-1 HR 0.87 (IC95% 0.63-1.21) y HR 0.75 (IC95% 0.22-2.51).

Kongwatcharapong 2016 (34) Revisión sistemática y me-

ta-análisis de 54 ECCAs (74737 pacientes), para evaluar ocurrencia de falla cardíaca en pacientes bajo tratamiento con DPP4-I, ampliando los períodos de observación a con estudios que superaran 12 semanas y que además incluyeran características críticas al riesgo cardiovascular/falla cardíaca, no contemplados en estudios previos.

La composición de los 54 ECCAs por cada DPP4- I fue la siguiente: 9 en alogliptina 7 en linagliptina 9 en saxagliptina, 19 en sitagliptina y 10 en vildagliptina, entre estos últimos 6 con comparador placebo y 4 con comparador activo (glimperida, rosiglitazona, metformina, gliclazida)

En la tabla 8 Kongwatcharapong 2016 están agrupados los riesgos para falla cardíaca para los diferentes DPP4-I y en función del riesgo cardiovascular.

Tabla 8 Kongwatcharapong 2016. Riesgo para falla cardíaca en diferentes DPP-4I

Riesgo de falla cardíaca por tipo de DPP-4I y riesgo cardiovascular RR (IC 95%9)			
	Todos los estudios	Bajo riesgo CV	Alto riesgo CV
Alogliptina	1.17 (0.90-1.52)	1.11 (0.50-2.44)	1.18 (0.89-1.55)
Linagliptina	-	1.16 (0.59-2.29)	-
Saxagliptina	1.21 (1.02-1.43)	0.53 (0.23-1.24)	0.02 (0.00-0.12)
Sitagliptina	0.71 (0.39-1.30)	0.67 (0.38-1.21)	1.25 (1.06-1.49)
Vildagliptina	-	0.81 (0.50-1.31)	-

DPP-4I: dipeptidil peptidasa 4 inhibidor, RR: riesgo relativo, IC: intervalo de confianza, CV: cardiovascular.

Con base en los RR identificados en este meta-análisis se observa incremento significativo de 25% en el riesgo para falla cardíaca, específicamente en pacientes con alto riesgo cardiovascular, para uno de los DPP -4I, saxagliptina.

Sato 2016 (35) - Estudio observacional con 962 pacientes hospitalizados por falla cardíaca 293 (30.5%) de ellos con DBT 2 y en tratamiento con DPP-4 I 122 pacientes, dentro de los que 44 (36%) recibían vildagliptina. El objetivo del estudio buscó identificar la asociación entre tratamiento con DPP-4 I con muerte por causa cardiovascular y por toda causa emparejando grupos con y sin DPP-4 I, y análisis para lograr puntaje de propensión.

El análisis para muerte cardiovascular identificó 4.8% pacientes con DPP-4I versus 18,1% pacientes sin DPP-4I; p 0.015 y en muerte por todas las causas 14.5% versus 41% respectivamente p 0.003.

El análisis de riesgos proporcionales, ajustado por variables confusoras, identifico a los DPP-4I como factor predictor independiente para mortalidad por toda causa HR 0.46, p 0.010 en cohorte antes de emparejamiento y HR 0.37 p 0.003 luego de emparejar para pacientes en quienes concurre falla cardíaca y DBT.

McInnes 2015 (36) - Meta-análisis de 40 ECCAs fase III-IV, incluyó 17000 pacientes en quienes se exploraron y analizaron los aspectos de seguridad cardiovascular y falla cardíaca atribuible vildagliptina. Los estudios primarios seleccionados reclutaron pacientes con alto riesgo cardiovascular, además de diabetes bajo tratamiento, tenían insuficiencia cardíaca identificada y compromiso renal moderado/severo.

Fueron identificados 9599 sujetos que recibían vildagliptina (exposición calculada a vildagliptina: 9251 personas-año), 7847 sujetos que recibían medicamento diferente a vildagliptina (exposición calculada: 7317 personas-año).

El comparador fue en el 36% placebo, sulfonilurea 33%, metformina 15%, tiazolidindionas 10% y 6% otros antidiabéticos orales. Vale mencionar que en cada grupo analizado, vildagliptina (9.7%) y comparador (11.0%) se trataba de población hispana o latina.

El evento cardiovascular adverso mayor (MACE) registrado en el grupo de vildagliptina fue para 83 pacientes (0.86%) y en 85 de quienes recibían otra terapia (1,2%); HR 0.82 (IC95% 0.61-1.11). En la tabla 9 McInnes 2015 se sintetizan los desenlaces cardiovasculares comparados.

Tabla 9. *McInnes 2015 Desenlace cardiovascular vildagliptina versus otro antidiabético oral*

Vildagliptina versus otro Antidiabético oral Incidencia (IC 95%)			
	Vildagliptina n/N (%)	Comparador activo n/N (%)	RR M-H (IC 95%)
MACE	83/9599 (0.86)	85/7102 (1.20)	0.82 (0.61 – 1.11)
Infarto miocardio	38/9599 (0.40)	35/7102 (0.49)	0.87 (0.56 – 1.38)
Evento Cerebro-Vascular	24/9599 (0.25)	25/7102 (0.35)	0.84 (0.47 – 1.50)
Muerte cardio-vascular	25/9599 (0.26)	28/7102 (0.39)	0.77 (0.45 – 1.31)

RR: riesgo relativo, M-H: Mantel-Haenszel, MACE: Major Adverse Cardio Vascular Events, IC: intervalo de confianza

Vildagliptina en compromiso renal

El razonamiento clínico y juicio crítico que demanda el cuidado de los pacientes con DBT obliga a proceder sin desestimar las implicaciones por el riesgo y compromiso en la función renal que, a su vez, impone retos en la selección y uso diferencial de las alternativas farmacológicas.

La presencia y progresión de albuminuria de en personas con DBT se ha identificado como un fuerte indicador de incremento para mortalidad cardiovascular; 8 veces en relación con la población general y entre 2 y 4 veces en comparación con diabéticos sin desarrollo de proteinuria (37, 38). A su vez, el descenso en la tasa de filtración glomerular junto con presencia de albuminuria son factores de riesgo independientes para eventos cardiovasculares (39).

Ahora bien, las implicaciones por eventos hipoglucémicos en diabéticos con función renal deteriorada son todavía más demandantes en la medida en que las variaciones hipoglucémicas representan mayor probabilidad de riesgo fatal (40), particularmente cuando se plantea intensificación de tratamiento pretendiendo lograr niveles “normales” de HbA1c. El estudio ACCORD - Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes -para evaluar respuesta fue detenido en forma temprana al identificar mayor mortalidad en el grupo de intensificación de terapia, atribuido a incidencia mayor de eventos hipoglucémicos (41,42).

Es así que, en el contexto de DBT con función renal comprometida, las propiedades pleiotrópicas y efectividad de los DPP-4I para el control metabólico son una clase de medicamentos con ventaja particularmente deseable al reducir el riesgo de hipoglucemia.

Howse 2016 (43) - Revisión sistemática y meta-análisis de 13 ECCAs -6848 pacientes diabéticos con función renal comprometida, para evaluar cambio en HbA1c, hipoglucemia, eventos cardiovasculares, muerte y enfermedad renal terminal asociadas a tratamiento con incretinas. Once de los estudios fueron realizados para evaluar DPP-4I.

De manera global, comparada con placebo, la clase incretinas demostró reducción significativa en los niveles de HbA1c con diferencial media 0.64; (IC95% 0.79-0.48); sin diferencias significativas con comparadores activos: media pondera 0.7; (IC95% 0.25-0.12).

En general, el riesgo de hipoglucemia comparado con placebo identificó RR 1.38; IC95% 1.01-1.89), sin diferencias con comparadores activos RR 0.24; (IC95% 0.03-1.94).

En mortalidad las incretinas versus placebo reflejaron RR 1.21; (IC95% 0.64-2.29), con comparador activo RR, 0.70; (IC95% 0.32-1.54).

Es interesante observar, para el desenlace meta-analítico riesgo de hipoglucemia RR 1.38; (IC95% 1.01-1.89), la manera en que se distribuye el riesgo en los diferentes estudios. El estudio de tolerabilidad y eficacia de vildagliptina en pacientes con DMT2 e insuficiencia renal crónica moderada o severa, tiempo de observación a 52 semanas, análisis en 369 sujetos, (Kothny 2012), exhibe un riesgo puntual 0.35; (IC95% 0.09-1.42), tendencia a la reducción del riesgo, en contraste con lo identificado para las demás incretinas. Este desenlace fue destacado de manera semejante en la revisión publicada por Thomas y cols (36).

Con base en los datos disponibles en los archivos suplementarios de ésta revisión calculamos el riesgo de muerte por toda causa para cada uno de los DPP-4I versus placebo, para análisis, disponible en la tabla 10 House 2016.

Tabla House 10 2016 - Riesgo de muerte por toda causa –DPP-4I versus Placebo

Riesgo de muerte por toda causa en DBT función renal comprometida			
	DPP-4I n/N	Placebo n/N	RR (IC 95%)
Linagliptina (Laakso 2013)	1/113	1/122	1.07 (0.06 – 17.13)
Linagliptina (McGill 2013)	3/68	3/65	0.95 (0.19 – 4.60)
Sitagliptina (Chan 2018)	5/65	1/26	1.92 (0.24 – 15.03)
Vildagliptina (Kothny 2012)	8/287	6/226	1.04 (0.36 – 2.98)

DPP-4I dipeptidil peptidasa 4 inhibidor, RR riesgo relativo, IC: intervalo de confianza.

Thomas 2016 – (44) Revisión sistemática con siete ensayos clínicos que evaluaron reducción de HbA1c, glucosa en ayunas, hipoglucemia y tolerabilidad en pacientes que cursaban con insuficiencia renal asociada.

Con base en los estudios incluidos en esta revisión fueron identificados dos DPP-4I que soportan eficacia en disminución de HbA1c en pacientes con diferente grado de severidad respecto a la insuficiencia renal y tiempo de observación hasta la semana 52 de tratamiento.

En forma global, con independencia el grado de compromiso renal, con vildagliptina la reducción promedio de HbA1c fue 0,8%, desde una línea de base de 7,8% en semana 12 que se mantiene hasta la semana 52.

En pacientes con insuficiencia renal moderada la reducción en el grupo vildagliptina fue de 0,7% en las semanas 12 y 52 y en pacientes con insuficiencia renal severa la reducción alcanzada fue 0,8%.

Kothny 2015 (45) - Desde el ECCA de 2012 con 369 pacientes con DMT2 e insuficiencia renal crónica (IRC) moderada o severa, tiempo de observación a 52 semanas para evaluar seguridad y eficacia de vildagliptina (50 mg/1 dosis/día) añadido a la terapia antidiabética, que en su mayoría tenían de base tratamiento insulina, demostró un cambio medio ajustado en HbA1C en $-0,4 \pm 0,1\%$ en pacientes con IR moderada y $-0,7 \pm 0,2\%$ en pacientes con IR severa y un perfil de seguridad similar a placebo.

Para 2015 Kothny reporta la evaluación vildagliptina comparada con sitagliptina en diabéticos con función renal comprometida identificando reducciones de HbA1c semejantes -0.54 y -0.56 ($p=0.87$). El porcentaje de pacientes que lograron meta de

HbA1c $\leq 7.0\%$ fue similar en ambos grupos, merece destacar que para HbA1c $\leq 6.5\%$ el porcentaje fue significativamente mayor (el doble) en el brazo 29.0% versus 14.3% en sitagliptina.

Vildagliptina en Insulinoterapia

Debido a la pérdida progresiva de la función de la célula β una proporción variable de pacientes requerirán insulina; con tolerabilidad y control metabólico en unos (46,47), pero en otros el resultado es pobre y; aún bajo esquemas de intensificación, los desenlaces en de reducción de riesgo o progresión de daño cardiovascular y mortalidad no se logran para cerca de las tres cuartas partes de quienes se encuentran bajo combinación insulina más antidiabético oral (48,49).

Adicionalmente los riesgos de hipoglucemia complican el espectro clínico (50) dificultad compleja de sortear a la hora de acordar con el paciente el plan de cuidado a seguir.

De manera progresiva hay nueva información sobre el efecto en el control metabólico en pacientes diabéticos con la asociación gliptina más insulina. En éste sentido y específicamente en lo referente a vildagliptina a continuación exponemos evidencia reciente disponible.

Kanazawa 2017 (51) -ECCA abierto en siete centros de Japón en diabéticos bajo insulinoterapia (larga acción, corta, premezclada), asignados en forma aleatoria a recibir vildagliptina 50 o 100 miligramos día según determinación y criterio de médico tratante, o no recibir vildagliptina. Los ajustes en dosis de insulina fueron realizados según criterio médico, el diseño especificó no ajustes en el DPP-4I.

Los desenlaces a evaluar fueron el cambio en HbA1c y eventos hipoglucémicos, a dos años de observación bajo tratamiento.

Los niveles de HbA1c se redujeron de manera significativa en los pacientes tratados con vildagliptina en $-0.58 \pm 0.16\%$ en comparación con el grupo control $0.19 \pm 0.19\%$; p 0.005. Fue evidente y de manera significativa el efecto en el cambio en $-0.63 \pm 0.17\%$ de HbA1c atribuible a la dosis 100 miligramos día de vildagliptina en comparación con quienes recibieron 50 miligramos día $-0.38 \pm 0.38\%$.

Al final del período de observación (52 semanas) el 40.5% de los pacientes que recibieron vildagliptina lograron niveles HbA1c $<7\%$ y el 70.3% HbA1c $<8\%$, en tanto que para el grupo con-

trol la proporción de pacientes que lograron esos niveles fue de 19.4% y 41.7% respectivamente.

El análisis incluyó explorar la asociación entre las características basales de los pacientes y el efecto atribuible a vildagliptina. El coeficiente de correlación (r) para el cambio en HbA1c en el análisis no ajustado fue directo y significativo con los niveles de creatinina e inverso y significativo con el nivel de partida de HbA1c. Estas correlaciones se mantuvieron en el mismo sentido y también significativas al realizar el ajuste por edad (Modelo 1), así como al ajustar en forma simultánea por edad, tiempo de duración de la diabetes y el índice de masa corporal (Modelo 2). Ver tablas 11 y 12 Kanazawa 2017 a) y b).

Tabla 11 - Kanazawa 2017 a- Cambio HbA1c

Correlación de cambio en nivel de HbA1c en función de características basales			
	No ajustado r (p)	Modelo 1 β (p)	Modelo 2 β (p)
Características de base			
-Edad	0.11 (0.53)	-	-
-Duración de la DBT	0.07 (0.69)	0.00 (0.99)	-
-Índice de masa corporal	0.05 (0.78)	0.10 (0.59)	-
-Creatinina sérica	0.42 (0.016)	0.47 (0.016)	0.48 (0.03)
-Filtración glomerular estimada	-0.32 (0.07)	-0.42 (0.06)	-0.38 (0.16)
-HbA1c	-0.39 (0.01)	-0.40 (0.02)	-0.38 (0.04)
-Dosis día de insulina	-0.08 (0.66)	-0.03 (0.89)	-0.03 (0.88)

Modelo 1 ajuste por edad. Modelo 2 ajuste por edad, duración diabetes, índice de masa corporal. r : correlación. p : significancia estadística

De otra parte, en cuanto a eventos hipoglucémicos identificados en los grupos, hay clara disminución de los mismos en el grupo que recibió vildagliptina y la manera en que los episodios (OR) por año caen clínica y estadísticamente significativa (desde tres o más episodios) para el grupo de pacientes en quienes se adiciona vildagliptina a insulino terapia.

Tabla 12 Kanazawa 2017 b - Riesgo de hipoglucemia

Riesgo de hipoglucemia en adición de vildagliptina a insulinoterapia			
	Vildagliptina	Control	OR (IC95%)
Episodio hipoglucemia por año			
-Uno o más	14	19	0.55 (0.21-1.38)
-Dos o más	10	13	0.66 (0.24-1.77)
-Tres o más	4	11	0.28 (0.08-0.97)
-Cuatro o más	1	9	0.55 (0.01-0.70)

OR: odds ratio, IC: intervalo de confianza

Merece resaltar la disminución promedio de las dosis totales diarias de insulina en -5.8 unidades; en carga -4.0 unidades y basales -1.6 unidades para el grupo que recibió vildagliptina en comparación con lo propio en el grupo control +0.2; -0.2; + 0.4 unidades respectivamente.

Li 2017 (52) - ECC doble enmascarado a 24 semanas en adultos con edad promedio 59 años, DBT 2 de más de 10 años de evolución – no controlada con HbA1c en media de 8,6% – aún bajo tratamiento con insulina o insulina + metformina. Se comparó el efecto sobre HbA1c y para variaciones glucémicas; mediante el cambio basal-final de la media de la amplitud de la excursión glucémica – (MAGE), particularmente nocturna (00:00 a 00:06 horas), al adicionar vildagliptina.

El cambio final en los niveles HbA1c para el grupo en insulina + metformina+vildagliptina fue significativo de $8.5 \pm 0.8\%$ a $7.6 \pm 0.8\%$, $p < 0.01$, en el grupo insulina + metformina+ placebo fue de $8.8 \pm 0.7\%$ a $8.9 \pm 1.3\%$, $p > 0.05$.

La variación glucémica - MAGE – en el grupo que recibió vildagliptina fue significativamente menor 3.7 ± 0.8 mmol/l vs 5.3 ± 2.6 mmol/l, $p 0.04$.

Gautier 2016 (53) Estudio piloto, ECC abierto incluyó 38 pacientes aleatorizados en dos grupos para comparar y analizar, por intención a tratar, dos esquemas terapéuticos en pacientes diabéticos con antidiabético oral y en quienes por pobre control se asociaría insulina. Un grupo mantendría el esquema previo (metformina + sulfonilurea) y se adicionó insulina, para el otro recibiría (metformina + vildagliptina) con adición insulina.

Los desenlaces a evaluar: control glucémico HbA1c $< 7.0\%$ e incidencia de hipoglucemia a 12 y 24 semanas.

De manera global y significativamente a las 12 semanas hubo mayor proporción de pacientes en el grupo al que se adicionó

vildagliptina con el logro de HbA1c $< 7.0\%$: 47.4% vs 11.8%, $p 0.021$, sin incremento del riesgo de hipoglucemia. Hacia el final del periodo de observación – 24 semanas – la proporción de pacientes en quienes se identificó hipoglucemia fue numéricamente diferente 44.4% vs. 47.1%, $p 0.877$.

Chen 2015 (55) - Revisión sistemática y meta-análisis de siete ECC - reunió 3384 pacientes para analizar efectividad y seguridad de DPP-4I en combinación con insulina en adultos con DBT-2, Entre ellos fue incluido el estudio de Fonseca 2007 con 296 pacientes cuya tiempo medio de enfermedad era de 15 años y en insulinoterapia basal o mixta.

El meta-análisis de los siete estudios (todos los DPP-4I) reveló reducción de HbA1c en -0.52 ; (IC95% 0.44-0.59), en el que el resultado para vildagliptina (a 24 semanas de seguimiento) fue -0.30 ; (IC95% 0.02-0.58) en comparación con placebo o comparador activo hipoglucemiante oral. No hubo incremento significativo en el riesgo de hipoglucemia ni en el agregado del meta-análisis 1.04; (IC95% 0.832–1.31), ni para vildagliptina en forma aislada 0.77; (IC95 % 0.53-1.14)

Kim 2016 (54) - Revisión sistemática y meta-análisis con 9 ECCAs (4464 adultos DBT 2) para análisis comparativo de desenlaces de efectividad (cambio en HbA1c) y seguridad (hipoglucemia) entre esquema DPP-4I + Insulina versus Insulina + placebo.

En la RS fueron incluidos dos estudios con vildagliptina. Uno de ellos (Fonseca 2007) bajo esquema vildagliptina + insulina versus insulina + placebo y el otro (Kothny 2013) bajo esquema vildagliptina + metformina + insulina versus insulina + placebo + metformina, ambos estudios a 24 semanas y cada uno aportó el 10% del peso ponderado del tamaño muestra para el meta-análisis. En la tabla 13 Kim 2016, cambio en HbA1c para cada uno de los 9 estudios, riesgo para evento hipoglucémico y correspondiente indicador meta-analítico.

Tabla 13- Kim 2016 – Cambio HbA1c y riesgo hipoglucemia

Cambio en nivel de HbA1c				
	DPP-4I + Ins	Ins + plb	Diferencia	Riesgo hipoglucemia
ECCA	media (DE)	media (DE)	media (IC 95%)	RR (IC95%)
Alogliptina				
-Rosenstock 2009	-0.71 (0.08)	-0.13 (0.08)	-0.59 (-0.80 - -0.38)	1.14 (0.75 – 1.73)
-Kaku 2014	-0.96 (0.06)	-0.29 (0.06)	-0.66 (-0.82 - -0.50)	0.99 (0.57 – 1.71)
Linagliptina				
-Yld-Jarvinen 2013	-0.58 (0.08)		-0.65 (-0.87 - -0.43)	0.95 (0.77 – 1.17)
Saxagliptina				
-Barnett 2012	-0.73 (0.05)	-0.07 (0.08)	-0.41 (-0.59 - -0.23)	0.93 (0.62 – 1.38)
Sitagliptina				
		-0.32 (0.07)		
-Kadowaki 2013	-0.60 (0.10)	-0.30 (0.10)	-0.90 (-1.05 - -0.75)	1.62 (0.93 – 2.85)
-NCT01462266	-1.31 (0.06)	-0.87 (0.06)	-0.45 (-0.61 - -0.29)	0.65 (0.52 – 0.85)
-Vilsbøll 2010	-0.59 (0.06)	-0.03 (0.06)	-0.56 (-0.70 - -0.42)	
Vildagliptina				
-Kothny 2013	-0.80 (0.10)	-0.10 (0.10)	-0.70 (-0.90 - -0.50)	1.15 (0.61 – 2.18)
-Fonseca 2007	-0.50 (0.10)	-0.20 (0.10)	-0.30 (-0.50 - -0.10)	0.77 (0.53 – 1.14)
Meta-análisis				
(Heterogeneidad I ² 76.4%)			-0.58 (-0.70 - -0.46)	0.94 (0.84 – 1.05)

DPP-4I: dipeptidil peptidasa 4 inhibidor, HbA1C: hemoglobina glucosilada, RR: riesgo relativo, DE: desviación estándar, IC: intervalo de confianza.

Chen 2015 (55) - Revisión sistemática y meta-análisis de siete ECC - reunió 3384 pacientes para analizar efectividad y seguridad de DPP-4I en combinación con insulina en adultos con DBT-2, Entre ellos fue incluido el estudio de Fonseca 2007 con 296 pacientes cuya tiempo medio de enfermedad era de 15 años y en insulino terapia basal o mixta.

El meta-análisis de los siete estudios (todos los DPP-4I) revelo

reducción de HbA1c en -0.52; (IC95% 0.44-0.59), en el que el resultado para vildagliptina (a 24 semanas de seguimiento) fue -0.30; (IC95% 0.02-0.58) en comparación con placebo o comparador activo hipoglucemiante oral.

No hubo incremento significativo en el riesgo de hipoglucemia ni en el agregado del meta-análisis 1.04; (IC95% 0.832–1.31), ni para vildagliptina en forma aislada 0.77; (IC95 % 0.53-1.14).

Ito 2015 (56) Estudio abierto prospectivo, multicéntrico –Japón– en 57 pacientes con DBT bajo insulino terapia con pobre control (con HbA1c >8%), al menos 10 años bajo tratamiento, para quienes se propuso determinar, en 36 de ellos, la eficacia a 24 semanas por la adición de 100 miligramos día de vildagliptina en combinación con insulina registrando valor promedio logrado en HbA1c de 7.5%, de manera notable las dosis de insulina fueron reducidas en 8,3 unidades promedio.

Para los 21 pacientes restantes se propuso comparar la combinación sitagliptina-insulina 12 semanas versus vildagliptina + insulina 12 semanas con cambio de HbA1c en 0.7%, de 9.0% a 8.3% con mínimos o ningún ajuste en las dosis media de insulina.

Discusión

El espectro de resultados expuestos hace parte de una continuada investigación en el DPP-4I vildagliptina; en 2018 supera 10 años de investigaciones previas, y adquiere especial interés en pacientes de edad avanzada, con diabetes de larga data y en quienes el riesgo de eventos hipoglucémicos, eventos cardiovasculares y deterioro de función renal es particularmente alto.

De manera global, el conjunto de publicaciones revisadas para el DPP-4I vildagliptina; sola o en combinación con metformina, también cuando se la adiciona tempranamente a pacientes bajo terapia insulínica, refleja perfil de efectividad y seguridad altamente confiables; semejante en frecuencia de eventos no deseados a placebo. En comparación con hipoglucemiantes orales más frecuentemente utilizados, destaca el menor riesgo de hipoglucemia y efecto neutro para ganancia de peso.

En esta revisión y síntesis de evidencias resultantes del conjunto de 23 estudios publicados entre 2015 a 2018 permite analizar el perfil de beneficios en efectividad y seguridad del DPP-4I vildagliptina en pacientes con DM2, particularmente para quienes

de manera manifiesta o latente integran; cuando menos, aquella mitad de diabéticos con algún grado de compromiso crónico y progresivo en la función renal (57), hecho que además de incrementar el riesgo de eventos cardiovasculares fatales y no fatales (58), impone restricciones; en diverso grado e incluso contraindicación para el uso de metformina y de otro tipo de hipoglucemiantes de larga acción.

Entre los más recientes y robustos estudios con los que se identifica no deterioro o no incremento de eventos vasculares o no riesgo incrementado de muerte de origen cardiovascular en DM2 bajo tratamiento con vildagliptina hay que destacar la RS de Bekiari y cols (32) y el estudio de base poblacional en 5 países de Europa-Williams 2017 (31).

Suma también el estudio para evaluar el efecto de vildagliptina sobre la función ventricular en pacientes con diabetes y fracción de eyección reducida – VIVID – en el que la dosis de 50 miligramos dos veces al día, comparada con placebo, no refleja impacto negativo (27). Naturalmente deben continuar las evaluaciones para esclarecer las discrepancias reportadas en el grupo de incretinas; incluidas las gliptinas, por el efecto sobre la función cardíaca, insuficiencia cardíaca y riesgo de admisión hospitalaria (59).

Entre tanto, es necesario reconocer el importante giro en la concepción de la DM2 como enfermedad y el renovado enfoque terapéutico actual, en buena parte impulsado por la investigación de los DPP-4I. Es así que nos alejamos del abordaje predominantemente centrado en la “meta HbA1c ideal” para evolucionar hacia una mejor comprensión de la alteración endotelial sistémica y desorden vascular que subyace en la fisiopatología de la diabetes mellitus, una de las condiciones crónicas más comunes en la población mundial, que genera serios y difíciles retos al paciente a su familia y que trascienden a los sistemas de salud y en la economía global.

Referencias

1. Nichols GA, Gullion CM, Koro CE, Ephross SA, Brown JB. The incidence of congestive heart failure in type 2 diabetes: an update. *Diabetes care*. Am Diabetes Assoc; 2004; 27(8):1879–84.
2. Tonelli M, Muntner P, Lloyd A, et al. Risk of coronary events in people with chronic kidney disease compared with those with diabetes: a population-level cohort study. *Lancet*. 2012; 380(9844):807–14.
3. Shurraw S, Hemmelgarn B, Lin M, et al. Association between glycaemic control and adverse outcomes in people with diabetes mellitus and chronic kidney disease: a population-based cohort study. *Arch Intern Med*. 2011; 171(21):1920–7.
4. Röhrborn D, Wronkowitz N, Eckel J. DPP4 in Diabetes. *Front Immunol*. 2015 Jan 4; 6:386.
5. Scherbaum, Schweizer, Mari, Nilsson, Lalanne, Wang, et al. Evidence that vildagliptin attenuates deterioration of glycaemic control during 2-year treatment of patients with type 2 diabetes and mild hyperglycaemia*. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2008;10(11):1114–24.
6. Schweizer A, Dejager S, Bosi E. Comparison of vildagliptin and metformin monotherapy in elderly patients with type 2 diabetes: a 24-week, double-blind, randomized trial. *Diabetes Obes Metab* 2009 Aug;11(8):804-12.
7. Matthews D, Dejager S, Ahren B, Fonseca V, Ferrannini E, Couturier A, Foley JE, Zinman B. Vildagliptin add-on to metformin produces similar efficacy and reduced hypoglycaemic risk compared with glimepiride, with no weight gain: results from a 2-year study. *Diabetes Obes Metab*. 2010 Sep;12(9):780-9.
8. Strain W, Lukashevich V, Kothny W, Hoellinger MJ, Paldánus PM. Individualised treatment targets for elderly patients with type 2 diabetes using vildagliptin add-on or lone therapy (INTERVAL): a 24 week, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet* 2013 Aug 3;382(9890):409-16.
9. Kothny W, Foley J, Kozlovski P, Shao Q, Gallwitz B, Lukashevich V. Improved glycaemic control with vildagliptin added to insulin, with or without metformin, in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2013 Mar;15(3):252-7.

10. Lukashevich V, Prato SD, Araga M, Kothny W. Efficacy and safety of vildagliptin in patients with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled with dual combination of metformin and sulphonylurea. *Diabetes Obes Metab*. 2014 May;16(5):403-9.
11. Derosa G, Bonaventura A, Bianchi L, Romano D, Fogari E, D'Angelo A, Maffioli P. Vildagliptin compared to glimepiride on post-prandial lipemia and on insulin resistance in type 2 diabetic patients. *Metabolism*. 2014 Jul;63(7):957-67.
12. Garber AJ, Abrahamson MJ, Barzilay JI, et al. Consensus statement by the American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology on the comprehensive type 2 diabetes management algorithm—2017. Executive summary. *Endocr Pract*. 2017; 23:207-238.
13. Khangura S, Konnyu K, Cushman R, Grimshaw J, Moher D. Evidence summaries: the evolution of a rapid review approach. *Syst Rev*. 2012 Feb 5;1:10.
14. Polisen J, Garrity C, Kamel C, Stevens A, Abou-Setta A. Rapid review programs to support health care and policy decision making: a descriptive analysis of processes and methods. *Systematic Reviews*. 2015; 4(1).
15. Shea BJ, Reeves BC, Wells G, Thuku M, Hamel C, Moran J, Moher D, Tugwell P, Welch V, Kristjansson E, Henry DA. AMSTAR 2: a critical appraisal tool for systematic reviews that include randomised or non-randomised studies of healthcare interventions, or both. *BMJ*. 2017 Sep 21;358:j4008.
16. Downs, Black. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomised and non-randomised studies of health care interventions. *Journal of Epidemiology and Community Health*. 1998;52(6):377-84.
17. Cohen C, Davis C, Shalev V, Chodick G. Effectiveness of vildagliptin as add-on to metformin monotherapy among uncontrolled type 2 diabetes mellitus patients in a real-world setting. *J Diabetes*. Wiley; 2018;10(1):68-72.
18. Ahrén B, Simonsson E, Larsson H, Landin-Olsson M, Torgeirsson H, Jansson P-AA, et al. Inhibition of dipeptidyl peptidase IV improves metabolic control over a 4-week study period in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2002 May 3;25(5):869-75.
19. Wang L-G, Wang H, Liu Q, Hua W-C, Li C-M. A network meta-analysis for efficacy and safety of seven regimens in the treatment of type II diabetes. *Biomed Pharmacother*. sciencedirect; 2017;92:707-19.
20. Esposito K, Chiodini P, Maiorino MI, Capuano A, Cozzolino D, Petrizzo M, et al. A nomogram to estimate the HbA1c response to different DPP-4 inhibitors in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of 98 trials with 24 163 patients. *BMJ Open*. 2015 Feb 1;5(2):e005892.
21. Godoy J G, Gutiérrez V, Montecinos M, Yenes A. Safety and efficacy of Vildagliptin in real life Chilean diabetic patients. *Rev Med Chil*. 2015 Jan 4;143(1):63-8.
22. Mathieu, Barnett, Brath, Conget, Castro, Göke, et al. Effectiveness and tolerability of second-line therapy with vildagliptin vs. other oral agents in type 2 diabetes: A real-life worldwide observational study (EDGE). *International Journal of Clinical Practice*. 2013; 67(10):947-56.
23. Scirica B, Bhatt D, Braunwald E, Steg G, Davidson J, Hirshberg B, et al. Saxagliptin and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *The New England Journal of Medicine*. 2013;369(14):1317-26.
24. Green J, Bethel A, Armstrong P, Buse J, Engel S, Garg J, et al. Effect of Sitagliptin on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *New Engl J Medicine*. nejm; 2015;373(3):232-42.
25. Zannad F, Cannon C, Cushman W, Bakris G, Menon V, Perez A, et al. Heart failure and mortality outcomes in patients with type 2 diabetes taking alogliptin versus placebo in EXAMINE: a multicentre, randomised, double-blind trial. *Lancet*. Sciencedirect; 2015; 385(9982):2067-76.
26. Rosenstock J, Perkovic V, Alexander JH, Cooper ME, Marx N, Pencina MJ, et al. Rationale, design, and baseline characteristics of the Cardiovascular safety and Renal Microvascular outcome study with LINagliptin (CARMELINA®): a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial in patients with type 2 diabetes and high cardio-renal risk. *Cardiovasc Diabetol*. 2018 Mar 3; 17(1):39.
27. McMurray J, Ponikowski P, Bolli G, Lukashevich V, Kozlovski P, Kothny W, et al. Effects of Vildagliptin on Ventricular Function in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Heart Failure A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Jacc Hear Fail*. Sciencedirect; 2018; 6(1):8-17.
28. Elgendy I, Mahmoud A, Barakat A, Elgendy A, Saad M, Abuzaid A, et al. Cardiovascular Safety of Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors: A Meta-Analysis of Placebo-Controlled Randomized Trials. *Am J Cardiovasc Drug*. Springer; 2017; 17(2):143-55.
29. Fadini G, Saragoni S, Russo P, Esposti L, Kreutzenberg S de, Melazzini M, et al. Intra-class differences in the risk of hospitalization for heart failure among patients with type 2 diabetes initiating a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor or a sulphonylurea: Results from the OsMed Health-DB registry. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. *Diabetes, Obesity and Metabolism*; 2017;19(10):1416-24.
30. Guo W-QQ, Li L, Su Q, Dai W-RR, Ye Z-LL. Effect of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors on Heart Failure: A Network Meta-Analysis. *Value Health*. 2017 Dec 5;20(10):1427-30.
31. Williams R, de Vries F, Kothny W, Serban C, Lopez-Leon S, Chu C, et al. Cardiovascular safety of vildagliptin in patients with type 2 diabetes: A European multi-database, non-interventional post-authorization safety study. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2017; 19(10):1473-8.
32. Bekiari E, Rizava C, Athanasiadou E, Papatheodorou K, Liakos A, Karagiannis T, et al. Systematic review and meta-analysis of vildagliptin for treatment of type 2 diabetes. *Endocrine*. 2016;52(3):458-80.
33. Filion KB, Azoulay L, Platt RW, of ... D-M. A multicenter observational study of incretin-based drugs and heart failure. *New Engl J of Med*. 2016.
34. Kongwatharapong, Dilokthornsakul, Nathisuwan, Phrommintikul, Chaiyakunapruk. Effect of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors on heart failure: A meta-analysis of randomized clinical trials. *International Journal of Cardiology*. 2016;88-95.
35. Sato A, Yoshihisa A, Kanno Y, Takiguchi M, Miura S, Shimizu T, et al. Associations of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors with mortality in hospitalized heart failure patients with diabetes mellitus. *ESC Heart Fail*. 2016 Jun 3;3(2):77-85.
36. McInnes G, Evans M, Prato S, Stumvoll M, Schweizer A, Lukashevich V, et al. Cardiovascular and heart failure safety profile of vildagliptin: a meta-analysis of 17 000 patients. *Diabetes Obes Metabolism*. 2015;17(11):1085-92.
37. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR, UKPDS GROUP. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int*. 2003;63(1):225-32.
38. So WY, Kong AP, Ma RC, et al. glomerular filtration rate, cardiorenal end points, and all-cause mortality in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2006;29(9):2046-52.
39. Ninomiya T, Perkovic V, de Galan BE, et al. Albuminuria and kidney function independently predict cardiovascular and renal outcomes in diabetes. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(8):1813-21.

40. Johnston SS, Conner C, Aagren M, Smith DM, Bouchard J, Brett J. Evidence linking hypoglycemic events to an increased risk of acute cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34(5):1164–70.
41. Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, Goff DC, Bigger JT, Buse JB, et al. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008 Jun 4; 358(24):2545–59.
42. Ismail-Beigi F, Craven T, Banerji MA, et al. Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial. *Lancet*. 2010; 376(9739):419–30.
43. Howse P, Chibrikova L, Twells L, Barrett B, Gamble J-M. Safety and Efficacy of Incretin-Based Therapies in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and CKD: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Kidney Dis*. sciencedirect; 2016;68(5):733–42.
44. Thomas MC, Paldánus PM, Ayyagari R, Ong S, Groop P-H. Systematic Literature Review of DPP-4 Inhibitors in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Renal Impairment. *Diabetes Therapy*. *Diabetes Therapy*; 439–54.
45. Kothny W, Lukashevich V, Foley J, Rendell M, Schweizer A. Comparison of vildagliptin and sitagliptin in patients with type 2 diabetes and severe renal impairment: a randomised clinical trial. *Diabetologia*. 2015;58(9):2020–6.
46. Fonseca V, Gill J, Zhou R, Leahy J. An analysis of early insulin glargine added to metformin with or without sulfonylurea: impact on glycaemic control and hypoglycaemia. *Diabetes Obes Metab*. 2011;13(9):814–822.
47. Aschner P, Chan J, Owens DR, et al. EASIE Investigators. Insulin glargine versus sitagliptin in insulin-naïve patients with type 2 diabetes mellitus uncontrolled on metformin (EASIE): a multicentre, randomised open-label trial. *Lancet*. 2012;379(9833):2262–2269.
48. Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Study Group, Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, Goff Jr DC, Bigger JT, Buse JB, et al. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008;358:2545–59.
49. Tsukube, S., Ikeda, Y., Kadowaki, T., and Odawara, M. (2015) Improved Treatment Satisfaction and Self-reported Health Status after Introduction of Basal-Supported Oral Therapy Using Insulin Glargine in Patients with Type 2 Diabetes: Sub-Analysis of ALOHA2 Study, *Diabetes Therapy* 6, 153–171.
50. Jabbour S. Primary care physicians and insulin initiation: multiple barriers, lack of knowledge or both? *Int J Clin Pract*. 2008; 62:845–847.
51. Kanazawa I, Tanaka K, Notsu M, Tanaka S, Kiyohara N, Koike S, et al. Long-term efficacy and safety of vildagliptin add-on therapy in type 2 diabetes mellitus with insulin treatment. *Diabetes Res Clin Pr*. sciencedirect; 2017; 123:9–17.
52. Li F-FF, Shen Y, Sun R, Zhang D-FF, Jin X, Zhai X-FF, et al. Effects of Vildagliptin Add-on Insulin Therapy on Nocturnal Glycemic Variations in Uncontrolled Type 2 Diabetes. *Diabetes Ther*. 2017 Oct;8(5):1111–22.
53. Gautier JF, Monguillon P, Verier-Mine O, Valensi P, Fiquet B, Dejager S, et al. Which oral antidiabetic drug to combine with metformin to minimize the risk of hypoglycemia when initiating basal insulin? A randomized controlled trial of a DPP4 inhibitor versus insulin secretagogues. *Diabetes Res Clin Pr*. 2016;116:26–8.
54. Kim Y, Min S, Hahn S, Oh T, Park K, Cho Y. Efficacy and safety of the addition of a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor to insulin therapy in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2016;116:86–95.
55. Chen C, Yu Q, Zhang S, Yang P, Wang C-Y. Assessing the efficacy and safety of combined DPP-4 inhibitor and insulin treatment in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(11):14141–50.
56. Ito D, Inoue K, Kaneko K, Yanagisawa M, Sumita T, Ikegami Y, et al. The efficacy of vildagliptin concomitant with insulin therapy in type 2 diabetic subjects. *J Clin Med Res*. 2015 May 5;7 (5):303–7.
57. Thomas MC, Cooper ME, Zimmet P. Changing epidemiology of type 2 diabetes mellitus and associated chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2016 Feb;12 (2):73–81.
58. Fox CS, Matsushita K, Woodward M, et al, for the Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium. Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without diabetes: A meta-analysis of 1 024 977 individuals. *Lancet* 2012; 380: 1662–73.
59. Nauck MA, Meier JJ, Cavender MA, Abd El Aziz M, Drucker DJ. Cardiovascular Actions and Clinical Outcomes With Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists and Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors. *Circulation*. 2017 Aug 2;136(9):849–70.

Abreviaturas

add-on: en combinación.

DE: Desviación estándar

DBT: Diabetes

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2

DPP-4: Enzima Dipeptidil-Peptidasa-4

DPP-4I: Inhibidor de dipeptidil peptidasa 4

ECCA: Ensayo Clínico Controlado Asignado Aleatoriamente

GLP-1: Glucagón péptido 1

GIP: Péptido inhibidor gástrico GIP

HbA1c: Hemoglobina glicosilada A1c

IC: Intervalo de confianza

OR: Odds ratio

r : Coeficiente de correlación

Síndrome febril prolongado de origen reumatológico. Reporte de tres casos

Renato Antonio Guzmán¹, María Camila Mejía², Vanessa Cadavid³, María Claudia Barrera³.

1. Médico Internista, Inmunólogo-Reumatólogo IDEARG.
2. Médico estudiante de Epidemiología – Fundación Universitaria Juan N. Corpas.
3. Médico general Servicio Social Obligatorio - Centro de Investigación, Fundación Universitaria Juan N. Corpas.

Resumen

El presente trabajo describe tres casos con Síndrome Febril Prolongado (SFP) con diagnóstico definitivo de enfermedad reumatológica, el primero, hombre de 29 años con picos febriles de 40°C, mialgias y adenopatías cervicales; único antecedente, viaje 30 días previos a región tropical, lo que hizo pensar en etiología infecciosa, sin embargo, tras persistencia de fiebre a pesar de cubrimiento antimicrobiano, se extienden estudios paraclínicos con hallazgo de ferritina en 2208 µg/l sugestivo de Enfermedad de Still del adulto al décimo día de estancia. El segundo es un hombre de 19 años, con clínica de dolor abdominal asociado a temperatura de 40°C sin antecedentes de importancia; ecografía abdominal evidencia hepatomegalia y derrame pleural; durante la estancia, presentó convulsiones tónico-clónicas y pancitopenia con anemia hemolítica, posterior a descartar cuadro infeccioso y neoplasia maligna, se solicitó perfil inmunológico con ANAS y Anticoagulante Lúpico positivos y se orienta diagnóstico hacia Lupus Eritematoso Sistémico al onceavo día de hospitalización, con mejoría posterior al manejo inmunomodulador. Por último, paciente femenina de 14 años con historia de artralgias, adenopatías cervicales/submaxilares, exantema morbiliforme y fiebres fluctuantes (38-39,9°C) de un mes de evolución que persistía pese a policultivos negativos y antibioticoterapia de amplio espectro por lo cual se amplían estudios de laboratorio encontrando ferritina de 3156 µg/l al día noveno de estancia y se diagnostica Enfermedad de Still del niño. La prevalencia de enfermedades reumatológicas en el SFP, ha venido en aumento permitiendo la aproximación precisa a otras etiologías antes no consideradas entre sus causas.

Autor de correspondencia:
renato.guzman@juanncorpas.edu.co

Como citar: Guzmán RA, Mejía MC², Cadavid V, Barrera MC. Síndrome febril prolongado de origen reumatológico. Reporte de tres casos. Revista Cuarzo 2018; 24 (1) 46-49.

Recibido: 17 de mayo de 2018
Aceptado: 25 de junio de 2018
Publicado: 30 de junio de 2018

Palabras clave: síndrome febril; enfermedad autoinmune; reumatología.

Prolonged febril syndrome of rheumatological origin. Report of three cases

Abstract

The present work describes three cases with Prolonged Febrile Syndrome (PFS) with definitive diagnosis of rheumatological disease. The first, a 29-year-old man with febrile peaks of 40 ° C, myalgias and cervical adenopathies; trip 30 days ago to tropical region, which led to think about an infectious etiology; however, after persistence of fever despite antimicrobial coverage, paraclinical studies are extended with ferritin finding at 2208 µg / l suggestive of Still's Disease from the adult to the tenth day of stay. The second is a 19-year-old man, with symptoms of abdominal pain associated with a temperature of 40 ° C with no relevant history; Abdominal ultrasound evidences hepatomegaly and pleural effusion; during the stay, presented tonic-clonic seizures and pancytopenia with hemolytic anemia, after ruling out infectious disease and malignancy, an immunological profile with positive ANAS and Lupus Anticoagulant was requested and a diagnosis was made towards Systemic Lupus Erythematosus on the eleventh day of hospitalization, with improvement after immunomodulatory management. Finally, a female patient of 14 years with a history of arthralgias, cervical and submaxillary adenopathies, morbilliform exanthema and fluctuating fevers (38-39.9 ° C) of a month of evolution that persisted despite negative polycultures and broad spectrum antibiotic therapy. which are extended laboratory studies finding ferritin of 3156 µg / l on the ninth day of stay and is diagnosed with Still's disease of the child. The prevalence of rheumatological diseases in the PFS, has been increasing allowing the precise approach to other etiologies previously not considered among its causes.

Keywords: febrile syndrome; autoimmunity disease; rheumatology.

Licencia creative commons



Introducción

El síndrome febril prolongado (SFP) se define como una temperatura axilar mayor a 38,3°C tomada al menos dos veces en un periodo de tres semanas o después de 3 días de hospitalización o 3 consultas ambulatorias sin diagnóstico concluyente; puede explicarse desde diversas etiologías agrupadas en: enfermedades infecciosas (25-40%), neoplasias (15-30%), enfermedades inflamatorias no infecciosas (10-30%), otras causas vasculares, metabólicas o farmacológicas (5-15%) y aquellas de origen desconocido (FOD) que cesan sin un diagnóstico establecido (1-3). Actualmente, la FOD es menos frecuente, contribuyendo al aumento en los otros grupos de clasificación etiológica, particularmente al de enfermedades inflamatorias no infecciosas ya que el avance en el diagnóstico serológico ha permitido la aproximación más precisa y rápida a las enfermedades del tejido conectivo y entre estas las más frecuentemente relacionadas con FOD son: enfermedad de Still, polimialgia reumática, arteritis temporal, artritis reumatoide, fiebre reumática, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome de Reiter, lupus eritematoso sistémico y vasculitis (3,4).

A pesar de lo descrito, el paciente con SFP, adulto o pediátrico, continúa siendo un reto diagnóstico para el médico en las diferentes áreas, sea por la heterogeneidad clínica y paraclínica a través del tiempo o por la necesidad de instaurar un tratamiento efectivo (5,6). A continuación se presentan tres casos clínicos con SFP como manifestación de enfermedades reumatológicas en diferentes grupos etarios.

Presentación de casos

Caso 1

Paciente masculino de 29 años de edad natural de Caracas, residente en Bogotá, ocupación odontólogo, consultó por cuadro clínico de 8 días de evolución consistente en fiebre cuantificada en 40°C que relaciona con abrasión cutánea en cara anterior de miembro inferior izquierdo hace 8 días y viaje a clima tropical hace 30 días; asocia mialgias generalizadas, astenia, adinamia y adenopatías cervicales e inguinales bilaterales, manejado ambulatoriamente con Dicloxacilina 500 mg cada 12 horas, Acetaminofén 500 mg cada 8 horas y Diclofenaco 50 mg cada 8 horas sin mejoría de lo descrito, además manifiesta pérdida de 4 Kg en la última semana. Refiere que es la primera vez que presenta la sintomatología.

Al indagar sobre sus antecedentes, refiere diarrea crónica intermitente desde hace 5 años, comenta ser consumidor ocasional de sustancias psicoactivas y fumador de 5 cigarrillos/día desde los 20 años hasta 3 meses previos al ingreso, traumatológicos, farmacológicos y epidemiológicos descritos en enfermedad actual. En el examen físico de ingreso los signos vitales evidenciaban taquicardia (>100 lpm) e hipertensión arterial (140/92 mmHg), como hallazgos positivos se palpan adenopatías retroauriculares y occipitales no dolorosas e inguinales bilaterales dolorosas,

miembro inferior izquierdo con lesión no dolorosa tipo abrasión en región tibial anterior de 3 cm sin signos de inflamación o infección; resto del examen físico normal.

Se decide hospitalizar por el servicio de Medicina Interna con diagnóstico de FOD y síndrome constitucional, se inicia antibioticoterapia de amplio espectro con Vancomicina + Ceftriaxona, control de signos vitales y se solicitan paraclínicos para estudio entre estos, Tomografía Axial Computarizada (TAC) de tórax y abdomen, ecocardiograma, cuadro hemático, parcial de orina, urocultivo, hemocultivos, serología VDRL, VIH, Hepatitis B y C, Citomegalovirus, Toxoplasmosis, Leptospira, cultivo para Leptospira en orina, látex para mononucleosis infecciosa, pruebas de función hepática y PCR de los cuales solo se evidenció alteración en Alanino-aminotransferasa (ALT) en 103 U/L y en la PCR en 20 mg/dl. Descartado todo lo anterior, hacia el cuarto día de estancia hospitalaria, se presenta pico febril de 38,5°C a pesar de manejo antibiótico, se considera el estudio de causas inflamatorias secundarias a procesos infecciosos, enfermedades del tejido conectivo y neoplasias con TAC de senos paranasales, cráneo y conducto auditivo, nuevos policultivos (hemocultivos, urocultivo, coprocultivo), coprológico, serología para Dengue, gota gruesa, perfil inmunológico habitual, Ferritina, PCR, TSH y se interconsulta por infectología para concepto, quienes indican inicio escalonar a Ampicilina/Sulbactam 3 gr cada 6 horas hasta tener reporte de cultivos.

Al sexto día desde el ingreso, se registra fiebre de 38,3°C asociado a dolor en plantas de pies y rodillas; por antecedente patológico de diarrea crónica, se solicita valoración por gastroenterología para pesquisa de tumor maligno gastrointestinal quienes solicitan estudios endoscópicos si no se encontrase etiología del cuadro. En el octavo día, se evidencia disminución en las adenopatías referidas al ingreso, sin embargo persiste dolor en plantas de pies y rodillas y se tiene reporte parcial de perfil inmunológico el cual evidencia ANAS 1/160 y Ferritina en 2208 µg/l (positivos) a lo cual el servicio de Reumatología diagnóstica Enfermedad de Still de adulto e inicia manejo con Prednisolona 20 mg cada 24 horas, Metotrexate 10 mg cada semana, Ácido fólico 1 mg cada 24 horas. En los siguientes dos días, el paciente refiere mejoría de sintomatología presentada, sin fiebre, resuelve taquicardia e hipertensión, desaparecen adenopatías y se da egreso con orden para seguimiento ambulatorio por la especialidad.

Caso 2

Paciente masculino de 19 años de edad, natural y residente en Bogotá, empleado de call center, remitido de otra institución hospitalaria por cuadro clínico de 11 días de evolución consistente en fiebre cuantificada diariamente de 40°C, asociado a astenia, adinamia, escalofríos, diaforesis nocturna, dolor abdominal tipo punzada en epigastrio, irradiado a región umbilical, de intensidad 8/10, cuatro deposiciones líquidas fétidas, sin moco, ni sangre, un episodio de epistaxis y en el último día exantema facial. Se hospitalizó con diagnóstico de FOD y leucopenia, se inició manejo antipirético con Acetaminofén y se solicitaron

paraclínicos de extensión: ecografía de abdomen evidenció derrame pleural laminar bilateral y líquido libre ascítico, tiempos de coagulación prolongados, cuadro hemático con pancitopenia, transaminasas, DHL, fosfatasa alcalina y TSH elevadas, coombs directo positivo con leve tinte icterico. Dada la alteración de las pruebas hepáticas, se decide descartar enfermedad hepatocelular, absceso hepático. Entre el segundo y sexto día de hospitalización el paciente continuaba con deposiciones diarreicas, además, presentó un episodio emético y una convulsión tónico clónica que resuelve de manera espontánea, una nueva ecografía abdominal reportó hepatoesplenomegalia y derrame pleural bilateral confirmado por TAC-alta resolución (TACAR) con densidades alveolares mal definidas basales bilaterales por proceso parenquimatoso, atelectasia laminares y parahiliares; se inicia manejo con Piperacilina/Tazobactam y se indica toracentesis descompresiva.

Por episodio convulsivo referido, lo valora neurología quienes realizaron punción lumbar con reporte de estudios, negativos, sin embargo, considerando la presencia de compromiso neurológico, poliserositis, pancitopenia y ANAs positivos (1/320), se interroga Lupus Eritematosos Sistémico (LES) versus hepatitis autoinmune y se instaura manejo con metilprednisolona y se solicita valoración por el Servicio de Reumatología quien considera que el cuadro clínico orienta hacia LES, se adicionó Azatriopina y Cloroquina. Se evidenció mejoría de la sintomatología, no se registraron nuevos picos febriles y posteriormente se dió salida con orden para seguimiento ambulatorio por consulta externa de Reumatología.

Caso 3

Paciente femenina de 14 años de edad, natural y procedente de Bogotá, ocupación estudiante, remitida de otra institución hospitalaria en compañía de sus padres con cuadro clínico de aproximadamente un mes de evolución consistente en fiebre cuantificada en 38-39,9°C, sin predominio horario, asociado a artralgias y mialgias generalizadas, por lo cual había consultado en dos ocasiones previas a su entidad de salud y fue manejada con diferentes esquemas antibióticos por diagnóstico de Faringoamigdalitis bacteriana, entre estos, Penicilina Benzatínica 1,200,000 UI dosis única y Amoxicilina 500 mg cada 8 horas por 7 días, además, Acetaminofén 500 mg cada 8 horas; sin embargo, al no evidenciar mejoría de los síntomas, los padres deciden consultar a urgencias de institución remitora donde realizan paraclínicos: cuadro hemático con leucocitosis en aumento progresivo en 24 horas de 19,600 a 22,600/mm³ a expensas de neutrófilos, además elevación de reactantes de fase aguda PCR 96 mg/dl y VSG 39 mm/h, diagnostican fiebre de origen desconocido, inician cubrimiento con Ceftriaxona 1 gr cada 12 horas y remiten para estudios de extensión.

Familiares refieren que es la primera vez que presenta la sintomatología.

Según lo referido, no hay antecedentes patológicos, sin nexos epidemiológicos; farmacológicos descritos y familiares de importancia, madre tuvo Guillain Barré.

Al examen físico de ingreso, se encuentra taquicárdica (130 lpm), leve eritema faríngeo, adenopatías submaxilares y cervicales dolorosas a la palpación en número de 3 de aproximadamente 0,5 cm de diámetro y exantema morbiliforme pruriginoso en abdomen y espalda.

Como conducta, se decide hospitalizar por el servicio de Pediatría para estudio del cuadro clínico con diagnóstico de síndrome febril de origen desconocido, inicialmente en búsqueda de foco infeccioso que lo explicara por lo que solicitan TAC de tórax, de senos paranasales y abdominal, ecografía abdominal, test rápido para Streptococcus beta hemolítico y cultivos de sangre y orina, continúan manejo con antibiótico parenteral instaurado en centro de referencia y adicionan Hidroxicina Clorhidrato.

El reporte de estudios imagenológicos no describe alteraciones al igual que el Strepto-test. Hacia el tercer día de hospitalización, el exantema se extiende hacia miembros superiores e inferiores, continúa la artralgia y los picos febriles, sin aislamientos en los cultivos, por lo cual se sospecha enfermedad del tejido conectivo y se solicita perfil inmunológico, perfil tiroideo, ecocardiograma, electrocardiograma y radiografía de manos comparativa, en la que no se evidencian lesiones. En el cuarto día de su estancia en la clínica, persiste desviación a la izquierda de leucocitos, ahora en 24,200 /mm³ aún a expensas de neutrófilos y como nuevo hallazgo anemia con hemoglobina de 11 gr/dL. El reporte de perfil tiroideo es normal, ecocardiograma sin alteraciones y electrocardiograma con taquicardia sinusal, pendiente aún perfil inmunológico, fue valorada por servicio de Reumatología, quienes consideran solicitar Ferritina sérica por sospecha de Enfermedad de Still, se instaura tratamiento con AINE (Ibuprofeno 400 mg cada 8 horas).

Un nuevo cuadro hemático evidencia mejoría de leve de leucocitosis con descenso glóbulos blancos absolutos a 20,200 /mm³, sin embargo empeoramiento de la anemia con nuevo descenso de la hemoglobina en 9,9 gr/dL, por lo cual, ante sospecha diagnóstica de enfermedad reumatológica, se solicita radiografía de tórax para descartar hemorragia alveolar, sin embargo, esta no se hace evidente y el perfil de hemólisis es negativo. En el día noveno, se tiene el reporte de perfil inmunológico el cual es negativo y de Ferritina positiva en 3156 µg/l, por lo cual, reumatología define diagnóstico de Enfermedad de Still y trata con Prednisolona 5 mg cada 12 horas, Metotrexate 10 mg cada semana y Ácido fólico 1 mg cada 24 horas; la paciente refiere mejoría de sintomatología respecto al ingreso y hacia el décimo día de estancia, egresó con orden médica para seguimiento ambulatorio por Reumatología pediátrica.

Discusión

El SFP se presenta con frecuencia en la práctica clínica, su abordaje se convierte en un desafío para llegar a un diagnóstico etiológico certero. La mayoría de los casos reportados en la literatura corresponden a causas infecciosas, entre las cuales se destacan rickettsiosis, babesiosis, fiebre tifoidea, mononucleosis infecciosa y en nuestro país, las más prevalentes han sido tuber-

culosis, dengue y chikungunya (7-11); lo cual obliga a descartar inicialmente estas patologías, tal como se pensó en los tres casos descritos. En contraste con lo anterior, desde el 2007, en un estudio neozelandés posicionó las causas inflamatorias no infecciosas como la etiología predominante con el 22% de los 2800 pacientes incluidos, sin embargo, el 51% de los pacientes no tuvo un diagnóstico definitivo (12), problema que viene en constante remisión con el progreso tecnológico en el ámbito de exámenes diagnósticos, permitiendo que las enfermedades del tejido conectivo sean un importante diagnóstico diferencial (3).

Según lo descrito en la literatura, la edad de los pacientes es determinante para establecer el diagnóstico, por ejemplo, en los pacientes pediátricos, la mayoría de las etiologías son infecciosas-virales y autoresuelven, sin embargo, es pertinente descartar neoplasias malignas, las cuales corresponden a un alto porcentaje en esta edad; así, en adultos, aunque también predominan las infecciosas, para ambos tipos de pacientes, en la última década se ha evidenciado aumento en aquellas de causa reumatológica, llegando casi a compararse con los grupos mencionados (13-15).

Los tres pacientes de este reporte cumplieron con la definición del SFP presentando temperatura axilar mayor a 38,3°C dos

veces después de 3 días de hospitalización. En los tres casos, considerando la prevalencia de enfermedades infecciosas como etiología del SFP, se realizaron los estudios necesarios para descartar Mononucleosis infecciosa, Hepatitis B, Hepatitis C, Citomegalovirus, Epstein Barr, VIH, Sífilis, Tuberculosis, Dengue, Leptospirosis y aquellas que para la edad del paciente pediátrico pudieran asociarse. Luego de descartarse el origen infeccioso del SFP, los exámenes del perfil inmunológico y los específicos como los niveles de Ferritina, en paralelo con los resultados imagenológicos y la clínica de los pacientes permitieron identificar los criterios diagnósticos de las dos enfermedades de tipo reumatológico que explicaban la fiebre prolongada de los pacientes.

Conclusión

El SFP es un diagnóstico frecuente en los servicios de urgencias y hospitalización, el cual se realiza previo al estudio de cualquier cuadro clínico que presente fiebre. Cada día podemos ver con mayor frecuencia que este síndrome se asocia a causas reumatológicas, por esto se hace importante hacer un llamado al personal de salud para estar alerta a la complejidad de los signos y síntomas que pueda presentar un paciente con características febriles y reumatológicas para dar un tratamiento efectivo.

Referencias

1. Durack DT, Street AC. Fever of unknown origin—reexamined and redefined. *Curr Clin Top Infect Dis* 1991;11:37.
2. Zenone T. Fever of unknown origin in adults: evaluation of 144 cases in a non-university hospital. *Scand J Infect Dis*. 2006;38(8):632-8.
3. Hayakawa K, Ramasamy B, Chandrasekar PH. Fever of unknown origin: an evidence-based review. *Am J Med Sci*. 2012;344(4):307-16.
4. Roth AR, Basello GM. Approach to the adult patient with fever of unknown origin. *Am Fam Physician*. 2003;68(11):2223-8.
5. Janow G, Schanberg LE, Setoguchi S, Hasselblad V, Mellins ED, Schneider R, et al. The Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis Cohort of the Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance Registry: 2010-2013. *J Rheumatol*. 2016;43(9):1755-62.
6. Balci MA, Pamuk ÖN, Pamuk GE, Uzundere FK, Donmez S. Epidemiology and outcome of adult-onset Still's disease in Northwestern Thrace region in Turkey. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33(6):818-23.
7. Sanhueza NC, Fariás S, Calzadilla J, Hermoso A. Typhoid fever: case report and literature review. *Medwave*. 2016;16(5):e6474.
8. Lemieux JE, Tran AD, Freimark L, Schaffner SF, Goethert H, Andersen KG, et al. A global map of genetic diversity in *Babesia microti* reveals strong population structure and identifies variants associated with clinical relapse. *Nat Microbiol*. 2016;1(7):16079.
9. Faccini AA, Botero CA, Hidalgo M. Contributions to rickettsioses research in colombia (1917-1943), luis b. Patiño camargo. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2016;58:33.
10. Restrepo BN, Piedrahita LD, Agudelo IY, Marín K, Ramírez R. Dengue infection: A common cause of febrile syndrome in patients from Quibdó, Chocó, Colombia. *Biomedica*. 2015 Jan-Mar;35(1):131-7.
11. Abdelbaky MS, Mansour HE, Ibrahim SI, Hassan IA. Prevalence of connective tissue diseases in egyptian patients presenting with Fever of unknown origin. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord*. 2011;4:33-41.
12. Bleeker-Rovers CP, Vos FJ, de Kleijn EM, Mudde AH, Dofferhoff TS, Richter C, et al. A prospective multicenter study on fever of unknown origin: the yield of a structured diagnostic protocol. *Medicine (Baltimore)*. 2007;86(1):26-38.
13. Bosilkovski M, Dimzova M, Stevanović M, Cvetkovska VS, Duganovska MV. Fever of unknown origin—diagnostic methods in a European developing country. *Vojnosanit Pregl*. 2016;73(6):553-8.
14. Turkulov V, Brkić S, Sević S, Marić D, Tomić S. Fever of unknown origin in elderly patients. *Srp Arh Celok Lek*. 2011;139(1-2):64-8.
15. Chien YL, Huang FL, Huang CM, Chen PY. Clinical approach to fever of unknown origin in children. *J Microbiol Immunol Infect*. 2015;S1684-1182(15)00830-0.