

ICLIAD 64 (1), 1-138, 2023

p-ISSN 0535-5133
e-ISSN 2477-9393

Volumen 64
No. 1
Marzo 2023

Investigación Clínica

Universidad del Zulia
Facultad de Medicina
Instituto de Investigaciones Clínicas
"Dr. Américo Negrette"
Maracaibo, Venezuela



Investigación Clínica

<https://sites.google.com/site/revistainvestigacionesclinicas>

Revista arbitrada dedicada a estudios humanos, animales y de laboratorio relacionados con la investigación clínica y asuntos conexos.

La Revista es de Acceso Abierto, publicada trimestralmente por el Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette”, de la Facultad de Medicina, de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Investigación Clínica está indizada en Science Citation Index Expanded (USA), Excerpta Medica/EMBASE y Scopus (Holanda), Tropical Diseases Bulletin y Global Health (UK), Biblioteca Regional de Medicina/BIREME (Brasil), Ulrich’s Periodicals, Journal Citation Reports (USA), Index Copernicus (Polonia), SIIEC Data Bases, Sección Iberoamérica (Argentina) e Infobase Index (India), Redalyc y las bases de datos: SciELO (www.Scielo.org.ve), Reveneyt, LILACS, LIVECS, PERIODICA y web de LUZ: <http://www.produccioncientificaluz.org/revistas>

Américo Negrette †
Editor Fundador (1960-1971)

Editora
Elena Ryder

Slavia Ryder
Editora 1972-1990

Asistente al Editor
Lisbeny Valencia

Comité Editorial (2022-2024)

Deyseé Almarza	Jesús Mosquera
María Díez-Ewald	Jesús Quintero
Juan Pablo Hernández	Enrique Torres
Yraima Larreal	Nereida Valero
Humberto Martínez	Gilberto Vizcaíno

Asesores Científicos Nacionales (2022-2024)

Alberto Aché (Maracay)	Oscar Noya (Caracas)
Trino Baptista (Mérida)	José Núñez Troconis (Maracaibo)
Rafael Bonfante-Cabarcas (Barquisimeto)	Mariela Paoli (Mérida)
Javier Cebrian (Caracas)	Flor Pujol (Caracas)
Rodolfo Devera (Ciudad Bolívar)	Alexis Rodríguez-Acosta (Caracas)
Saul Dorfman (Maracaibo)	Martín Rodríguez (Caracas)
Jorge García Tamayo (Maracaibo)	Vanessa Romero (Maracaibo)
José Golaszewski (Valencia)	Liseti Solano (Valencia)
Liliana Gomez Gamboa (Maracaibo)	Lisbeth Soto (Valencia)
Maritza Landaeta de Jiménez (Caracas)	Marisol Soto Quintana (Maracaibo)
Jorymar Leal (Maracaibo)	Herbert Stegemann (Caracas)
Diego Martinucci (Maracaibo)	Ezequiel Trejo-Scorza (Caracas)
Edgardo Mengual (Maracaibo)	

Asesores Científicos Internacionales (2022-2024)

Carlos Aguilar Salinas (México)	Carlos Lorenzo (USA)
Francisco Alvarez-Nava (Ecuador)	Juan Ernesto Ludert (México)
Germán Añez (USA)	Valdair Muglia (Brasil)
César Cuadra Sánchez (Nicaragua)	Alejandro Oliva (Argentina)
Peter Chedraui (Ecuador)	José Antonio Páramo (España)
Marcos de Donato (México)	Isela Parra Rojas (México)
José Esparza (USA)	Joaquín Peña (USA)
Francisco Femenia (Argentina)	Mercede Pineda (España)
Hermes Flórez (USA)	Heberto Suárez (USA)
Elvira Garza-González (México)	Rodolfo Valdez (USA)
José María Gutiérrez (Costa Rica)	Gustavo Vallejo (Colombia)
Tzasna Hernández (México)	

*Para cualquier otra información dirigir
su correspondencia a:*

*Dra. Elena Ryder, Editora
Instituto de Investigaciones Clínicas
"Dr. Américo Negrette"
Facultad de Medicina, Universidad del Zulia
Maracaibo, Venezuela.*

Teléfono:

+58-0414-6305451

Correos electrónicos:

elenaryder@gmail.com

riclinicas@gmail.com

Páginas web:

*[https://sites.google.com/site/
revistainvestigacionesclinicas](https://sites.google.com/site/revistainvestigacionesclinicas)*

*[http://www.produccioncientificaluz.
org/revistas](http://www.produccioncientificaluz.org/revistas)*

*For any information please address
correspondence to:*

*Dr. Elena Ryder, Editor
Instituto de Investigaciones Clínicas
"Dr. Américo Negrette"
Facultad de Medicina, Universidad del Zulia
Maracaibo, Venezuela.*

Phone:

+58-0414-6305451

E-mails:

elenaryder@gmail.com

riclinicas@gmail.com

Web pages:

*[https://sites.google.com/site/
revistainvestigacionesclinicas](https://sites.google.com/site/revistainvestigacionesclinicas)*

*[http://www.produccioncientificaluz.
org/revistas](http://www.produccioncientificaluz.org/revistas)*



Universidad del Zulia
Publicación auspiciada por el
Vicerrectorado Académico
Serbiluz-CONDES

© 2023. INVESTIGACIÓN CLÍNICA

© 2023. Instituto de Investigaciones Clínicas

CODEN: ICLIAD

Versión impresa ISSN: 0535-5133

Depósito legal pp 196002ZU37

Versión electrónica ISSN: 2477-9393

Depósito legal ppi 201502ZU4667

Artes finales:

Lisbeny Valencia

lisbenyvalencia@gmail.com

EDITORIAL

Las enfermedades tropicales desatendidas en Venezuela en la era de COVID-19.

Las enfermedades tropicales desatendidas (ETDs), comprenden un importante grupo de enfermedades infecciosas que afectan desde tiempos inmemoriales a las poblaciones marginadas más vulnerables y representan una pesada carga social y económica. A pesar de los avances significativos logrados, las ETDs no han podido ser controladas del todo. Ante esta situación, la Organización Mundial de la Salud (OMS) consideró recientemente como ETDs prioritarias un conjunto heterogéneo de 20 enfermedades y grupos de afecciones, entre ellas las helmintiasis transmitidas por el suelo, y plantea un plan para aplicar medidas multisectoriales para prevenir, controlar y erradicar estos padecimientos como problemas de salud pública para el 2030¹. Este editorial destaca entre las ETDs a las geohelmintiasis para ilustrar los desafíos de prevención y control en Venezuela que probablemente aumentarán ante la pandemia de COVID-19. Si bien estas helmintiasis son principalmente una causa de morbilidad, son factores potenciales de diarrea y desnutrición que son motivos importantes de mortalidad.

Nosotros como investigadores, hemos estado involucrados en el campo de los parásitos intestinales durante décadas. Los estudios epidemiológicos de estos agentes, en comunidades de escasos recursos económicos en el estado Zulia, evidencian tasas altas, de 54-92%, con una o más especies, y de *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichiura* de 19,8 a 74,6% y 26,6 a 82,8%, respectivamente; estos resultados son preocupantes, ya que revelan la perennidad de este proble-

ma de salud pública²⁻⁴ que refleja que no han habido cambios fundamentales en el modo de vida de las poblaciones afectadas y que las medidas de prevención y control han fracasado.

La crisis humanitaria en Venezuela, durante las dos últimas décadas ha ocasionado pobreza; para el año 2022, el 50,5% de los hogares era pobre⁵. Este factor, aunado a la falta de un nivel básico de agua potable, saneamiento ambiental, infraestructura sanitaria y servicios del sector salud, favorecen la propagación y dinámica epidemiológica de los agentes infecciosos. Los factores ambientales influyen en más del 80% de las enfermedades y de estas las más afectadas incluyen las afecciones diarreicas y las parasitarias. En efecto, en paralelo al colapso de los servicios públicos y la crisis sanitaria, las enfermedades emergentes y reemergentes han tenido un impacto significativo y han creado una situación epidemiológica compleja⁶ que, combinada con los factores mencionados, agravan el problema que representan las geohelmintiasis y otras ETDs.

Actualmente, nos enfrentamos a una de las crisis de salud pública más trascendentales en décadas, la pandemia de COVID-19, la cual podría exacerbar la situación de las ETDs, debido a que su impacto económico global, que pudiera conducir a mayor pobreza y los servicios de salud pública están siendo llevados al límite. Mientras que las ETDs afectan principalmente a comunidades marginadas en países de ingresos bajos y medianos y las pérdidas económicas que ocasionan son más selectivas, afectando

primordialmente a las poblaciones pobres. Se puede vislumbrar el impacto que esta situación tendrá en las ETDs y en los logros obtenidos en su control y eliminación. De hecho, la OMS en el 2020, recomendó posponer la administración masiva de medicamentos y otras actividades de control de las ETDs debido a los riesgos potenciales que representan para COVID-19⁷ y evaluar estos riesgos para renovar o mantener estas labores⁸, muchas de las cuales ya han cesado. Si bien estamos enfrentando el grave escenario de esta pandemia, es ineludible destacar las ETDs y crear una mayor concienciación sobre estas y se requiere un enfoque multidisciplinario que maximice la interacción entre las diferentes disciplinas, la cooperación de los organismos de salud y la aplicación por parte de los gobiernos de las medidas de saneamiento ambiental y el mejoramiento del nivel de vida de las poblaciones afectadas. Sin embargo, estas medidas son difíciles de implementar en países de ingresos bajos y medianos.

Está por verse si el plan de la OMS de aplicar medidas multisectoriales para controlar y erradicar 20 de las ETDs para el próximo decenio es factible en países empobrecidos. Estas áreas tienen diferentes estilos de vida y niveles de higiene e intensa labor agrícola que favorecen la ocurrencia y transmisión de los protistas. Por lo tanto, la distribución, las fuentes de infección, las dinámicas de transmisión y la evolución de los patógenos pueden ser diferentes. En el caso de los geohelminthos, el número de países en los que se validó la eliminación de estos agentes como problema de salud pública (<2%

de infecciones moderadas y altas) fue de 0% para el 2020, y la meta es lograr el 96% para el 2030. Si la coinfección entre los geohelminthos y el SARS-CoV-2 aumenta las complicaciones⁹, entonces la carga de COVID-19 en los países endémicos puede ser peor de lo esperado. Por lo tanto, las estrategias de control para estos helmintos deben mantenerse e integrarse con las de esta pandemia y deben incluir innovaciones que consideren no solo reducir la morbilidad sino eliminar la transmisión de estos agentes infecciosos. Estas tácticas acelerarían el logro de la eliminación de estos agentes infecciosos como problema de salud pública en el 2030¹⁰. En Venezuela, las perspectivas de solucionar el problema de las ETDs son desesperanzadoras por la actual crisis humanitaria, el complejo panorama epidemiológico y la pandemia de COVID-19. Se puede vislumbrar que el objetivo de eliminar las geohelminthiasis y otras ETDs como problemas de salud pública en el país es un plan ambicioso y que la solución no será ni a corto ni a mediano plazo; se requerirán muchas décadas para lograrlo.

En conclusión, las ETDs continúan siendo un problema de salud pública en las poblaciones empobrecidas y la pandemia de COVID-19 podría agravar la situación por su impacto económico; en Venezuela, la crisis humanitaria exacerba el problema. Es necesario maximizar los esfuerzos de las disciplinas de la salud y los gobiernos para eliminar este problema de salud pública.

Leonor Chacín-Bonilla

ORCID:0000-0002-8203-3185

Neglected tropical diseases in Venezuela in the era of COVID-19.

Neglected tropical diseases (NTDs) remain a public health problem among vulnerable, marginalized populations. The crisis in Venezuela has caused poverty, malnutrition, the collapse of the health system and public services that have determined the emergence and re-emergence of infectious diseases that exacerbate the problem of NTDs. Due to its economic impact, the COVID-19 pandemic could lead to greater poverty and aggravate the situation. The WHO aims to eliminate 20 NTDs, including geohelminthiasis, as a public health problem by 2030, which is an ambitious plan for Venezuela. To eliminate NTDs as a public health problem, it is necessary to maximize the efforts of the different health disciplines and the application by governments of environmental sanitation measures and the improvement of the standard of living of the affected populations. However, these measures are complex and take time to implement.

REFERENCIAS

1. **World Health Organization.** Ending the sustainable development goals: A road map for neglected tropical diseases 2021-2030. 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240010352>.
2. **Chacín-Bonilla L, Dikdan Y.** Prevalencia de *Entamoeba histolytica* y otros parásitos intestinales en una comunidad suburbana de Maracaibo. *Invest Clin* 1981; 22:185-203.
3. **Chacín-Bonilla L, Guanipa N, Cano G, Parra AM, Estévez J, Raleigh X.** Epidemiological study of intestinal parasitic infections in a rural area from Zulia State, Venezuela. *INTERCIENCIA* 1998; 23:241-247.
4. **Chacín-Bonilla L.** Geohelminthiasis en Venezuela: Un viejo y grave problema que tiende a persistir. *Invest Clin* 1985; 26 (1):1-3.
5. **Universidad Católica Andrés Bello.** Encuesta Nacional de Condiciones de Vida (ENCOVI) 2022. <https://www.proyectoencovi.com/encovi-2022>.
6. **Chacín-Bonilla L.** Perfil epidemiológico de las enfermedades infecciosas en Venezuela. *Invest Clin* 2017; 58:103-105.
7. **Bodimeade C, Marks M, Mabey D.** Neglected tropical diseases: elimination and eradication. *Clin Med* 2019; 19:157-160. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.19-2-157>.
8. **World Health Organization.** COVID-19: WHO issues interim guidance for implementation of NTD programmes. 2020. https://www.who.int/neglected_disease/news/COVID-19-WHO-interim-guidance-implementation-NTD-programmes/en/
9. **Chacón N, Chacín-Bonilla L, Cesari IM.** Implications of helminth immunomodulation on COVID-19 co-infections. *Life Res* 2021; 4:26. <https://doi.org/10.53388/life2021-0502-309>.
10. **Falah PM, Rahayu Y, Kurniawati A, Nurdian Y.** Mitigation of soil-transmitted helminthiasis resurgence in the era of Covid-19 disruption: a literature review. *M Biom J* 2022; 32:96-102. <https://doi.org/10.20473/mbiom.v32i2.2022.96-102>.

Correlation between bacterial type/bacterial quantity and bone loss detected by cone beam computed tomography (CBCT) in primary endodontic infections.

Ricardo Oliva Rodríguez¹, Georgina Yaretsky Rangel Galván¹, Ana María González Amaro¹, Francisco Javier Gutiérrez Cantú², Abraham Israel Muñoz Ruiz², José Obed García Cortés² and Jairo Mariel Cárdenas²

¹Programa de Postgrado en Endodoncia, Facultad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, SLP, México.

²Programa de Postgrado en Ciencias Dentales, Facultad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, SLP, México.

Keywords: bone loss; cone beam; primary endodontic infection.

Abstract. Periapical lesions (PL) of endodontic origin are one of the most common pathological conditions that affect peri-radicular tissues. The main objective of this study was to evaluate the amount and species of microorganisms isolated from necrotic pulps, establish a correlation between these and the size of periapical lesions, and how the amount and species of microorganisms decreased with non-surgical root canal treatment. Twenty-seven patients with a clinical diagnosis of dental pulp necrosis and chronic periapical lesions were selected; a Cone Beam Computed Tomography (CBCT) and microbial samples of the root canal system were taken previous to a disinfection protocol, a post-instrumentation/disinfection protocol, and a post-medication placement. Samples were processed for colony-forming unit (CFU) counting, Gram staining technique, and bacterial identification by the API-20 Strep/API-20A system. The API system identified 21 species of microorganisms in the pre-instrumentation samples, 11 species in the post-instrumentation samples, and 11 in the post-medication samples. There was a correlation coefficient of 0.598% between the initial size of the lesion and the number of bacteria, with a coefficient of determination up to 35.7%, a correlation coefficient of 0.486% and a determination coefficient of 23.6% between the size of the periapical lesion and the number of CFUs. This study contributes to the knowledge of the amount and species of microorganisms isolated and identified from necrotic pulps, establishes a correlation between the amount and species of microorganisms and the size of the periapical lesions, and shows how the decrease of microorganisms contributes to the healing of PL, corroborating the importance of an adequate disinfection protocol.

Correlación entre el tipo y cantidad de bacterias y la pérdida ósea detectada por Tomografía Computarizada de Haz Cónico (CBCT) en infecciones endodóncicas primarias.

Invest Clin 2023; 64 (1): 5 – 14

Palabras clave: pérdida ósea; haz cónico; infección endodóncica primaria.

Resumen. Las lesiones periapicales (LP) de origen endodóncico son la condición patológica más común que afectan los tejidos perirradiculares. El objetivo principal de este estudio es evaluar la cantidad y especie de bacterias aisladas de pulpas necróticas, correlacionar la cantidad y especies bacterianas con el tamaño de la lesión, y cómo disminuyen la cantidad y especies de microorganismos con el tratamiento de conductos. A 27 pacientes con diagnóstico de necrosis pulpar y lesión periapical crónica detectada con CBCT se les tomaron muestras microbianas del sistema de conductos antes y después del protocolo de desinfección y de la medicación intraconducto. Las muestras se procesaron para el recuento de unidades de formación de colonias (UFC), tinción de Gram e identificación mediante el sistema API-20 Strep/API-20A. Se identificaron 21 especies en las muestras pre-instrumentación, 11 en las muestras post-instrumentación y 11 en las muestras post-medicación; se observó un coeficiente de correlación del 0,598% entre el tamaño inicial de la lesión y la cantidad de bacterias, con un coeficiente de determinación hasta el 35,7%, un coeficiente de correlación del 0,486% y un coeficiente de determinación del 23,6% entre el tamaño de la lesión periapical y el número de UFCs. Este estudio contribuye al conocimiento sobre la cantidad y especies de microorganismos aislados e identificados a partir de pulpas necróticas, establece una correlación entre la cantidad y especies de microorganismos y el tamaño de las lesiones periapicales y exhibe cómo la disminución de microorganismos contribuye a la curación de LP, corroborando la importancia de un adecuado protocolo de desinfección.

Received: 18-05-2022 *Accepted:* 26-09-2022

INTRODUCTION

Periapical lesions (PL) are one of the most common pathological conditions that affect peri-radicular tissues in the alveolar bone^{1,2} and are mainly classified as radicular cysts or dental granulomas^{1,3-5}. The microbial invasion and subsequent infection of the root canal system play a decisive role in the initiation, progression^{1,4}, and establishment of peri-radicular conditions⁴ since bacteria and their by-products act as antigens that elicit a non-specific inflammatory response

as well as specific immunological reactions in the peri-radicular tissues².

The bacterial species present in the apical region may have a significant role in the pathogenesis of apical periodontitis⁶. Gram-negative bacteria predominate in the root canal system of teeth with pulp necrosis and PL⁶. Some bacterial virulence factors include the structural components and products of bacterial metabolism⁶. It has been established that the levels of endotoxins in root canal infections are directly related to the severity of peri-radicular bone destruc-

tion⁷. Lipopolysaccharides (LPS) that form part of the bacterial cell wall and act like endotoxins are especially important in endodontic infections because of their biological effects, which lead to a complex interplay with host factors⁶, like chemical mediators of inflammation, including the cytokines IL-1a, IL-1b, TNF- α and prostaglandins related to the pathogenesis of periapical lesions⁵, resulting in clinical symptomatology, inflammatory reaction, and resorption of mineralized tissues⁶. Also, teichoic acid (TA) and lipoteichoic acid (LTA) are present in gram-positive bacteria and share their pathogenic properties with LPS, resulting in well-known injuries to the dental pulp and periapical tissues⁶.

Most PL (>90%) can be classified as dental granulomas, radicular cysts, or abscesses³, but the precise nature of such lesions can only be determined histologically; for this reason, the true prevalence of each pathological condition is unclear⁵. PL should be treated initially by a non-surgical approach¹. The purpose of the non-surgical root canal treatment is to shape and clean the root canal system^{1,4} to eliminate the necrotic tissue and infective bacteria and their antigens¹, and finally seal the root canal system three-dimensionally to prevent reinfection⁴. PL usually heals as a response to meticulous non-surgical endodontic treatment⁴. The primary root canal treatment yields predictable results with a survival rate of 95% after a 4-year follow-up⁴. To assess the healing potential of a PL, a period of 6 to 12 months after root canal treatment should be considered, while complete healing of the PL lesion might take up to four years. However, treatment failure is possible due to different microbial and non-microbial factors⁴, leading to persistent intra- or extra-radicular infection, and a surgical procedure should be considered¹.

Nowadays, histopathological evaluation is the gold standard for diagnosing PL, but CBCT, MRI, and echography show promising results in differentiating granulomas and

cysts⁴. In addition, CBCT offers relatively high-resolution and isotropic images. Potential applications in endodontics include diagnosis and evaluation of most aspects of endodontic treatment, such as determination of the configuration and length of the root canal, presence of accessory canals, and PL evaluation⁸.

The main objective of this study was to evaluate the amount and species of microorganisms isolated from necrotic pulps, establish a correlation between these and the size of periapical lesions; and to determine how the amount and species of microorganisms decreased after the non-surgical root canal treatment.

METHODS

This study was evaluated and authorized by the Research Ethics Committee of the Faculty of Stomatology, UASLP, with the code CEI-FE-019-016.

Twenty-seven systemically healthy patients (18-60 years old) with a clinical diagnosis of dental pulp necrosis and chronic PL associate (primary endodontic infection) were selected for the study.

Microbial identification

Microbial samples of the root canal system were taken from each tooth previous to disinfection protocol, post-instrumentation/disinfection protocol, and post-medication placement.

Before each clinical procedure, the area of intervention was cleaned with a brush and Viarden® prophylactic paste (Viarden SA de CV, Mexico). Next, each patient was anesthetized with mepivacaine HCl 2% + epinephrine 1:100000. A rubber dam was placed and sealed with LC Block Out in the enamel rubber dam interface. The dental pulp chamber access was performed using a carbide bur #2, then the operative field was disinfected with hydrogen peroxide 30% (Fermont, Productos Químicos Monterrey SA de CV, Mexico) for 1 minute, sodium hypochlorite 2.25%

for 1 minute, and finally the solutions were inactivated with the application of sodium thiosulfate 10% for 1 minute (Fermont, Productos Químicos Monterrey, México).

The endodontic working length was established using an apex locator ID (SybronEndo, Kerr Corp. USA); then the pre-instrumentation bacterial sample of the root canal system was taken; after, the root canal was instrumented with Protaper Next rotary system (X1, X2, X3) (Dentsply Sirona, USA). The final irrigation protocol was used as follows: 2 mL of EDTA 17%, followed by 2 mL of NaOCl 2.25%, both solutions were activated with an E11 #25 ultrasonic tip and a Varios 370 ultrasound device (NSK, Shinagawa Tokyo, Japan); finally 3 mL of sterile saline solution were employed, a post-instrumentation sample was taken at this point. Finally, the intracanal medication was placed (Ca(OH)_2) and the dental pulp chamber was sealed with a temporary restoration (IRM, Dentsply). On a second session (7 days after session 1), each patient was anesthetized with Mepivacaine HCl 2% + epinephrine 1:100000. A rubber dam was used and LC Block Out was placed. The operative field was disinfected, and the temporary restoration was removed; then the intracanal medication was eliminated using ultrasonic tips; then the final irrigation protocol was performed as follows, 2 mL of EDTA 17%, followed by 2 mL of NaOCl 2.25%, both solutions were activated by an E11 #25 ultrasonic tip and a Varios 370 ultrasound device (NSK, Shinagawa Tokyo, Japan). Finally, 3 mL of sterile saline solution were used; the operative field was disinfected as previously described and the post-medication bacterial sample was taken.

All the bacterial samples were taken using a sterile Capillary Tip (0.035mm) (Ultradent®) connected to a 5 mL hypodermic syringe. The sample was placed in Eppendorf tubes with thioglycollate broth and incubated for 48 h in an anaerobic chamber (COY, laboratory products, Incubator Model 2000 Great Lake, USA).

Once all the bacterial samples were collected, the samples were incubated in an anaerobiosis chamber for 48 h, then samples were processed for CFU counting, Gram staining technique, and bacterial identification by API-20 Strep /API-20A.

CBCT evaluation

A CBCT of the involved teeth was taken before root canal treatment. The CBCT images were obtained by Kodak CS 9000 3D tomography equipment. The image size was established at $76 \mu\text{m} / 50 \times 37 \text{ mm}$. Images were examined using Kodak CS3D (version 3.2.12) software.

Of the 27 periapical lesions diagnosed, ten were randomly selected and were measured using the PLM (Periapical Lesion Measurement Index) previous to the root canal treatment. Six months after non-surgical endodontic treatment, a second CBCT was taken to compare them. The bone volume destruction was determined using axial, sagittal, and coronal planes. The lesion's width, length, and depth were measured using the axial, sagittal, and coronal planes. The images were evaluated by a calibrated external observer using the Estrela's index⁹: 0 = Intact periapical bone structures, 1 = Radiolucency diameter 0.5-1 mm³, 2 = Radiolucency diameter 1-2 mm³, 3 = Radiolucency Diameter 2-4 mm³, 4 = Radiolucency diameter 4-8 mm³, Radiolucency diameter 8 mm³, +E = Periapical cortical bone expansion, +D = Destruction of the periapical cortical bone.

RESULTS

Microbial identification (API-20 Strep/ API-20A)

The biochemical method API identified 21 species of microorganisms in the pre-instrumentation samples (Table 1), 11 species in the post-instrumentation samples (Table 2), and 11 in the post-medication samples (Table 3). The main microorganisms identified were *Actinomyces naeshundii* (16.66% pre-instrumentation/27.08% post-

Table 1

Bacteria species found in pre-instrumentation samples

		%
1	<i>Actinomyces naeshlundii</i>	23.61
2	<i>Enterococcus faecalis</i>	16.66
3	<i>Aerococcus viridans</i>	8.33
4	<i>Streptococcus sanguis</i>	6.94
5	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	6.94
6	<i>Clostridium spp</i>	5.55
7	<i>Streptococcus oralis</i>	4.16
8	<i>Aerococcus viridans 2</i>	2.77
9	<i>Porphyromona asaccharolytica</i>	2.77
10	<i>Bacteroides spp</i>	2.77
11	<i>Actinomyces israelii</i>	2.77
12	<i>Streptococcus intermedius</i>	2.77
13	<i>Aerococcus viridans</i>	2.77
14	<i>Propionibacterium propionicum</i>	1.38
15	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.38
16	<i>Streptococcus mitis</i>	1.38
17	<i>Clostridium perfringens</i>	1.38
18	<i>Aerococcus otitis</i>	1.38
19	<i>Aerococcus urinae</i>	1.38
20	<i>Gardnerella vaginalis</i>	1.38
21	<i>Prevotella oralis</i>	1.38

Table 2

Species found in post-instrumentation samples

		%
1	<i>Enterococcus faecalis</i>	29.16
2	<i>Actinomyces naeshlundii</i>	27.08
3	<i>Porphyromona asaccharolytica</i>	8.33
4	<i>Prevotella oralis</i>	8.33
5	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	6.25
6	<i>Clostridium spp</i>	6.25
7	<i>Streptococcus oralis</i>	4.16
8	<i>Bacteroides spp</i>	6.24
9	<i>Aerococcus viridans</i>	2.08
10	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2.08

Table 3

Species found in post-medication samples

		%
1	<i>Actinomyces naeshlundii</i>	40.00
2	<i>Enterococcus faecalis</i>	22.85
3	<i>Aerococcus viridans</i>	11.42
4	<i>Porphyromona asaccharolytica</i>	5.71
5	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2.85
6	<i>Bacteroides uniformis</i>	2.85
7	<i>Clostridium cadaveris</i>	2.85
8	<i>Clostridium perfringens</i>	2.85
9	<i>Bacteroides stercoris</i>	2.85
10	<i>Streptococcus sanguis</i>	2.85
11	<i>Prevotella</i>	2.85

instrumentation/40% post-medication), and *Enterococcus faecalis* (23.61% pre-instrumentation/29.16% post-instrumentation / 22.85% post-medication). Even when adequate instrumentation, proper disinfection, and use of intra-canal medication were carried out, species were detected on samples after non-surgical root canal treatment. This confirmed the decrease of bacteria after each therapeutic step procedure, but also showed that the complete disinfection of the root canal system is not possible.

For turbidity and CFU, descriptive statistic was performed (mean, mean error, standard deviation, minimum and maximum values) (Table 4) and compared between groups (Table 5). The normality of the variables was determined with the Shapiro-Wilk test. The student's T-test was used to compare groups. A Pearson's correlation coefficient was employed (95% confidence intervals).

According to the Gram stain, the bacteria most identified in the present study were Gram-positive.

CFU counting

According to the obtained results, based on turbidity, there is a correlation coefficient of 0.598% between the initial size of the lesion and the number of bacteria from

Table 4
Mean comparison of groups

	Sample	Mean	Mean Error	Standard Deviation	Minimum Value	Maximum Value
Turbidity	Pre-Shaping & Cleaning	4.826	0.330	1.713	2.500	7.500
	Post-Shaping & Cleaning	2.278	0.203	1.056	1.100	4.500
	Post-Intracanal Medication	0.937	0.063	0.328	0.500	1.600
CFU	Pre-Shaping & Cleaning	165.300	18.300	95.000	25.000	300.000
	Post-Shaping & Cleaning	48.440	4.720	24.500	6.000	100.000
	Post-Intracanal Medication	9.890	2.550	13.240	0.000	40.000

Table 5
Comparison of groups

	Pre-Shaping & Cleaning vs Post-Shaping & Cleaning	Pre-Shaping & Cleaning vs Post-Intracanal Medication	Post-Shaping & Cleaning vs Post-Intracanal Medication
Turbidity	0.001*	0.001*	0.001*
CFU	0.001*	0.001*	0.001*

*Statistical difference ($P \leq 0.001$)

the pre-instrumentation sample, with a coefficient of determination up to 35.7%; a correlation coefficient of 0.486% and a determination coefficient of 23.6% between the size of the initial lesion and the number of total CFUs with statistically significant difference (* $p = \leq 0.001$).

The quantification of CFU counting showed a bacterial decrease between the pre-instrumentation, post-instrumentation, and post-medication samples, with a statistically significant difference between all groups (Table 5), which means that each step procedure contributed to the control of the odontogenic infection.

CBCT evaluation

Ten random PL were evaluated by CBCT after six months of the endodontic treatment. According to the data obtained, there was a decrease in the volume size of the PL (Table 6).

DISCUSSION

The present study contributes to the knowledge about the amount and species of

microorganisms isolated and identified from necrotic pulps, and determines a correlation between the initial size of a PL and the number of bacteria. It also corroborates that the root canal shaping, cleaning, and use of intracanal medication decreased the amount and species of bacteria identified, but do not eliminate them.

According to the obtained data, the bacteria most commonly identified from the root canal system were Gram-positive facultative anaerobes, corroborating previously reported literature⁶. It has been established that the microorganisms in the biofilm are exposed to very different environmental conditions from those in planktonic form, and many species can change their metabolism depending on the surrounding physiological and physicochemical conditions¹⁰. Periradicular dental biofilm is characterized by microorganisms adhered to the cementum, to the dentin, or both, in the apical portion of the root, surrounded by an external polysaccharide matrix (biofilm) that limits the access of defense molecules (antibodies and

Table 6
Comparison of periapical lesion before and after non-surgical root canal treatment

Sample	Initial Lesion Size	Initial PAI	Lesion Size 6 Months After Treatment	PAI 6 Months After Treatment	Reduction Percentage
1	8.20 mm ³	5	6.96 mm ³	4	15.12
2	13.80 mm ³	+D	7.90 mm ³	4	42.75
3	7.00 mm ³	4	4.59 mm ³	4	34.42
4	5.92 mm ³	3	3.19 mm ³	3	46.11
5	23.00 mm ³	+D	7.92 mm ³	4	65.56
6	8.96 mm ³	+E	4.34 mm ³	4	51.56
7	7.15 mm ³	4	4.60 mm ³	4	35.00
8	25.74 mm ³	+E	11.13 mm ³	+D	56.75
9	50.31 mm ³	+E	22.99 mm ³	+E	54.30
10	5.60 mm ³	4	3.04 mm ³	3	45.71

Estrela's Periapical Index (PAI): 0 = Intact periapical bone structures, 1 = Radiolucency diameter 0.5-1 mm³, 2 = Radiolucency diameter 1-2 mm³, 3 = Radiolucency Diameter 2-4 mm³, 4 = Radiolucency diameter 4-8 mm³, Radiolucency diameter 8 mm³, +E = Periapical cortical bone expansion, +D = Destruction of the periapical cortical bone.

complement) and phagocytic cells (macrophages and neutrophils) ⁶. The microorganisms forming biofilms are more resistant to antimicrobials (up to 1000 times less susceptibility to specific antimicrobials) and the host immune defenses than their planktonic counterparts ¹⁰.

The purpose of root canal treatment is to debride and disinfect the root canal system and to eradicate intracanal bacteria or at least reduce them to a level below that necessary to heal and prevent periapical diseases or allow their resolution ¹¹. However, in some cases when the apical seal fails (apical filtration), the pathology persists ¹², due to residual microorganisms ⁴, or extra-radicular microorganisms ⁶, both with access to periradicular tissues maintaining the pathology⁴. In primarily infected root canals, microorganisms were able to access and colonize the pulpal tissue and impair its function ⁶. The most common pathologic factors in the alveolar bone derived from necrotic dental pulp are PL ¹³. Their microbial profile consists of 10-30 species per canal ⁶. According to the data obtained in our study, at least

21 different species of microorganisms were identified previously to the root canal disinfection. The species number identified post-disinfection and post-medication decreased to 11 species.

It has been reported that microorganisms like *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Parvimonas*, *Tannerella*, *Treponema*, *Dialister*, *Filifactor*, *Actinomyces*, *Olsenella*, and *Pseudoramibacter* predominated in the root canal system; also, some facultative or microaerophilic streptococci are commonly found in primary infections ⁶. According to our data, the main microorganisms identified were *Actinomyces naeshlundii*, *Enterococcus faecalis*, *Aerococcus viridans*, *Streptococcus sanguis*, and *Fusobacterium nucleatum*, corroborating previous reported literature. Cardoso *et al.* ⁷ revealed a positive correlation between root canal volume, determined by CBCT analysis, and CFU count found in primary endodontic infections with apical periodontitis ⁷. It also showed that the presence of selected bacteria species, such as *L. buccalis*, *P. intermedia*, *C. gracilis*, *C. gingivalis*, and *C. sputigena*, as well as

their interaction in the form of complexes, was positively correlated with the presence of clinical features. Cardoso *et al.* also revealed that larger root canals hold higher levels of culturable bacteria. Thus, the interaction of different virulent bacteria species in complexes plays an important role in the development of clinical features⁷. This data is corroborated by the results reported in this study, in which there is a relation between the number of bacteria and the presence of a PL. In a study performed in Taiwan by Li-Wan Lee¹⁴, it was found that the main species of bacteria identified by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, were *Porphyromonas endodontalis*, *Bacteroides fragilis*, *Dialister invisus*, *Fusobacterium nucleatum* and *Treponema denticola*¹⁴, the differences of main species reported could be due to the difference of population evaluated and the laboratory techniques to isolate, culture and identify the microorganisms. One of the main reported specie is *E. faecalis*, a facultative gram-positive bacterium, capable of surviving in an environment with scarce availability of nutrients and minimal commensality with other bacteria. It presents different virulence and resistance mechanisms, which hinder its eradication from root canals⁶.

Literature has reported that at a 6-month follow-up after the root canal treatment, only half of the cases exhibit signs of healing and that after a 12-month interval, 88% of these lesions exhibit signs of recovery. In contrast, complete healing of the peri-apical lesion might take up to four years⁴. Our study corroborates these findings since the samples evaluated by CBCT 6 months after the root canal treatment showed a size reduction of the PL. The control and resolution of the associated infection and healing of PL depend on different factors, including the amount and species of bacteria related to the infection process and the capability of the immune system to control the remaining bacteria. Interactions of bacteria species

and their grouping into complexes make endodontic infections even far more complex for the immune system response, which can lead to different clinical symptoms⁷.

It has been reported that lesions ≤ 10 mm had an 80% of success rate while the larger ones showed a success rate of 53%¹², then the largest periapical lesions are associated with the worst prognosis¹². In our study, it was possible to prove a directly proportional relationship between the lesion size and the amount and number of bacterial species. Also, it has been established that the pathologic nature of the PL plays an essential role in the clinical evolution of the periapical disease; a true periapical cyst is less likely to heal after non-surgical root canal treatment and might require peri-radicular surgery⁴.

A definitive diagnosis of peri-radicular cyst is reached only through histopathologic evaluation^{4,13} by serial cross-sectioning of the lesion specimen⁴. But nowadays, the CBCT represents a non-invasive method for differentiating periapical cysts and granulomas⁴. Also, represents an ideal method to evaluate the healing of a PL after root canal treatment or surgical endodontic treatment, consistent with the data reported in this study. Nevertheless, according to the American Association of Endodontists (AAE), CBCT should only be used when the required imaging question cannot be answered adequately by lower-dose conventional radiography or alternate imaging modalities⁴.

The comprehension and understanding of the microbial characteristics in the root canal system play an essential role in the treatment and resolution of periapical diseases. This study determined that the amount and species of microorganisms isolated from necrotic pulps, established a correlation between the amount/species of microorganisms and the size of periapical lesions, and showed that the decrease of microorganisms through the non-surgical root canal treatment contributes to the healing of PL, corroborating the importance of an adequate disinfection protocol. It also established that the CBCT

could be used as an objective method to evaluate the evolution of a PL after root canal treatment. However, further studies are needed to confirm the data reported.

Funding

Rangel Galván GY was the recipient of a scholarship from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), México. This study was realized with funds of the Programa de Postgrado en Endodoncia, Facultad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, SLP, México.

Conflict of Interest

The authors declare not to present any conflict of interest or competence with the research work carried out.

Authors ORCID number

- Ricardo Oliva Rodríguez (ROR): 0000-0002-1797-1773
- Georgina Yaretzy Rangel Galván (GYRG): 0000-0003-3883-8258
- Ana María González Amaro (AMGA): 0000-0002-6375-9642
- Francisco Javier Gutiérrez Cantú (FJGC): 0000-0001-7220-5791
- Abraham Israel Muñoz Ruiz (AIMR): 0000-0003-2522-3617
- José Obed García Cortés (JOGC): 0000-0002-7990-7312
- Jairo Mariel Cárdenas (JMC): 0000-0002-4733-7271

Authors Participation

- Conception and work design. ROR, GYRG
- Collection/obtaining results. ROR, GYRG, AMGA, AIMR

- Data analysis and interpretation. ROR, GYRG, AMGA, FJGC
- Writing the manuscript. ROR, AIMR, JMC, JOGC
- Critical revision of the manuscript. ROR, AIMR, JOGC
- Approval of the final version. AIMR, FJGC
- Statistical advice. JMC
- Ethical or administrative advice. AMGA

REFERENCES

1. **Alghamdi F, Alhaddad AJ, Abuzinadah S.** Healing of periapical lesions after surgical endodontic retreatment: a systematic review. *Cureus*. 2020;12(2):1–9.
2. **García CC, Sempere FV, Diago MP, Bowen EM.** The post-endodontic periapical lesion: histologic and etiopathogenic aspects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007;12(8):585–590.
3. **Çalışkan MK.** Prognosis of large cyst-like periapical lesions following non-surgical root canal treatment: A clinical review. *Int Endod J* 2004;37(6):408–416.
4. **Karamifar K, Tondari A, Saghiri MA.** Endodontic periapical lesion: an overview on the etiology, diagnosis, and current treatment modalities. *Eur Endod J* 2020;5(2):54–67.
5. **Vier F V, Figueiredo JAP.** Prevalence of different periapical lesions associated with human teeth and their correlation with the presence and extension of apical external root resorption. *Int Endod J* 2002;35(8):710–719.
6. **Gomes BPF de A, Herrera DR.** Etiologic role of root canal infection in apical periodontitis and its relationship with clinical symptomatology. *Braz Oral Res* 2018;32:82–110.
7. **Cardoso FG da R, Martinho FC, Ferreira N de S, do Prado RF, Manhães-Júnior LRC, Rocco MA, Carneiro-Valera M.** Correlation between volume of root canal, cultivable bacteria, bacterial complexes and endo-

- toxins in primary infection. *Braz Dent J* 2019;30(2):117–122.
8. **Nair MK, Nair UP.** Digital and advanced imaging in endodontics: a review. *J Endod* 2007;33(1):1–6.
 9. **Estrela C, Bueno MR, Azevedo BC, Azevedo JR, Pécora JD.** A new periapical index based on cone beam computed tomography. *J Endod* 2008;34(11):1325–1331.
 10. **Beltran-Leal A, Muñoz-Ruiz A, Esparza-Villalpando V, Castro Y, Pozos-Guillen A, Flores H.** 5-Aminolevulinic acid photoactivated over planktonic and biofilm forms of *Enterococcus faecalis* as a pharmacological therapy alternative. *Brazilian J Pharm Sci* 2020;56:1–9.
 11. **Basmaci F, Öztan MD, Kiyani M.** Ex vivo evaluation of various instrumentation techniques and irrigants in reducing *E. faecalis* within root canals. *Int Endod J* 2013;46(9):823–830.
 12. **Serrano-Giménez M, Sánchez-Torres A, Gay-Escoda C.** Prognostic factors on periapical surgery: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2015;20(6):e715–e722.
 13. **Razavi SM, Kiani S, Khalesi S.** Periapical lesions: a review of clinical, radiographic, and histopathologic features. *Avicenna J Dent Res* 2015;7(1):1–6.
 14. **Lee LW, Lee YL, Hsiao SH, Lin HP.** Bacteria in the apical root canals of teeth with apical periodontitis. *J Formos Med Assoc* 2017;116(6):448–456.

Efecto del compuesto N-2,6-dicloro-aralquil-2-Aminoindano en la conducta estereotipada de ratas. Acción dopaminérgica selectiva central sobre los ganglios basales más que en las estructuras límbicas.

Marienny del V. Velásquez¹, Alexander E. Albarracín¹, Kelvin Boscán¹, Ligia B. Ángel¹, Rodolfo E. Izquierdo¹, María M. Ramírez¹, Biagina del C. Migliore¹, Jaime E. Charris², María del R. Garrido³, Anita Israel³, Simón E. López⁴ y Jorge E. Ángel¹

¹Laboratorio de Síntesis Orgánica, Diseño y Evaluación Farmacológica de Nuevos Productos. Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

²Laboratorio de Síntesis Orgánica, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

³Laboratorio de Neuropéptidos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

⁴Department of Chemistry, University of Florida, Gainesville, Florida, USA.

Palabras clave: profármaco; enfermedad de Parkinson; enfermedades neurodegenerativas.

Resumen. La dopamina 1, está implicada en trastornos neurodegenerativos que afectan al sistema nervioso central (SNC) tales como la enfermedad de Parkinson, entre otros. Aunque no se dispone aún de ningún fármaco capaz de prevenir, detener o curar la progresión de estas enfermedades, son numerosos los compuestos que han sido diseñados, sintetizados y evaluados farmacológicamente, que han aportado las generalizaciones farmacofóricas del receptor dopaminérgico, necesarias para la búsqueda de un fármaco capaz de mejorar o curar estas patologías. Los derivados 2-aminoindano-N-aralquílicos han mostrado tener actividad selectiva en el sistema dopaminérgico central, de modo tal que los compuestos clorhidratos de N-[(2,4-diclorofenil)-1-metil-etil]-2-aminoindano **2** y N-[(3,4-diclorofenil)-1-metil-etil]-2-aminoindano **3** demostraron tener actividad agonística mediada por mecanismos dopaminérgicos centrales. Con el propósito de contribuir en la búsqueda de nuevos fármacos que permitan restablecer la homeostasis de la transmisión dopaminérgica en la enfermedad de Parkinson, el compuesto N-2,6-dicloro-aralquil-2-aminoindano **4** fue diseñado a través de estrategias de la química medicinal, que contienen las

aproximaciones farmacofóricas de los profármacos. La evaluación farmacológica del compuesto 4, en la conducta estereotipada en ratas macho de la cepa Sprague Dawley, demostró tener actividad agonística a través de la activación de los mecanismos dopaminérgicos centrales y mostró mayor selectividad en las respuestas de conductas estereotipadas propias de los ganglios basales sobre las respuestas conductuales propias de las estructuras límbicas.

Effect of the compound N-2,6-dichloro-aralkyl-2-aminoindane on the stereotyped behavior of rats. Selective action on the central dopaminergic system in the basal ganglia over limbic structures

Invest Clin 2023; 64 (1): 15 – 27

Keywords: prodrug; Parkinson's disease; neurodegenerative disorders.

Abstract. Dopamine 1 is involved in neurodegenerative disorders affecting the central nervous system (CNS), such as Parkinson's disease. Despite the absence of some available drugs capable of preventing, stopping or curing the progression of such diseases, there are numerous compounds designed, synthesized, and pharmacologically tested which give rise to pharmacophoric generalizations about the dopaminergic receptor required for the search of a drug able to improve or cure those pathologies. *N*-aralkyl-2-aminoindane derivatives have shown selective activity in the central dopaminergic system. Both the *N*-[(2,4-dichlorophenyl)-1-methyl-ethyl]-2-aminoindane hydrochloride 2 and *N*-[(3,4-dichlorophenyl)-1-methyl-ethyl]-2-aminoindane hydrochloride 3 showed an agonistic activity mediated by central dopaminergic mechanisms. To contribute to the search of new drugs able to re-establish homeostasis in the dopaminergic transmission in Parkinson's disease, the compound *N*-2,6-dichloro-aralkyl-2-aminoindane 4 was designed through medicinal chemistry strategies that contain pharmacophoric approximations of prodrugs. The pharmacological evaluation of compound 4 in the stereotyped behavior of male Sprague Dawley rats showed agonistic activity through the activation of central dopaminergic mechanisms and a higher selectivity in the responses of stereotyped behavior characteristic of the basal ganglia over the typical responses from limbic structures.

Recibido: 02-05-2022

Aceptado: 25-09-2022

INTRODUCCIÓN

La dopamina (DA) 1 como neurotransmisor, juega un papel importante en las diversas funciones vitales en el sistema nervioso central tales como la actividad motora,

la alimentación, el afecto, la recompensa, el sueño, la atención, la memoria, el aprendizaje, el humor y la habilidad para experimentar placer (Fig. 1). El mal funcionamiento de la transmisión dopaminérgica en la sustancia negra, el cuerpo estriado y en el

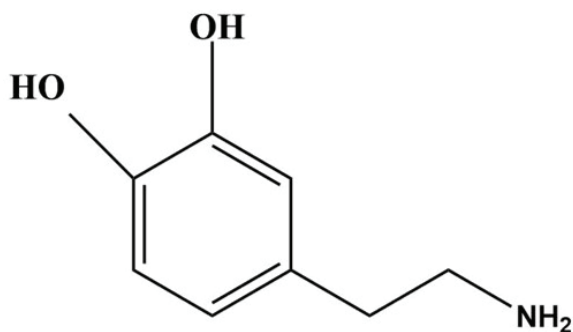


Fig. 1. Dopamina (DA) 1.

sistema límbico, de forma directa o indirecta, están implicados en diversos trastornos neurodegenerativos y neuropsiquiátricos ^{1,2}. Entre las enfermedades neurodegenerativas encontramos la Enfermedad de Parkinson (EP). La terapéutica actual de esta patología, consiste en reponer los niveles de dopamina en el núcleo estriado con la administración de la levodopa y/ bloqueantes de la acetilcolina; también se administran agonistas de los receptores de la dopamina. A pesar de que el tratamiento con levodopa y otros fármacos antiparkinsonianos, permite que los pacientes presenten mejoría clínica con beneficios máximos del medicamento, su eficacia disminuye con el tiempo; o bien su uso prolongado produce efectos indeseables en el paciente, lo que incide en la suspensión de dichos fármacos ³⁻⁵. Por otra parte, el tratamiento quirúrgico es de alcance limitado para pacientes con síntomas no controlables o disquinesias en etapas tardías, además, en su mayoría aún se encuentra en fase experimental ^{6,7}.

La acción de la DA está mediada a través de sus receptores divididos farmacológicamente en dos clases, los D_1 y los D_2 . A la familia de los receptores D_1 pertenecen los subtipos D_1 y D_5 , mientras que la familia de los D_2 incluye los subtipos D_2 , D_3 y D_4 ^{8,9}. Los receptores dopaminérgicos pertenecen a la gran familia de receptores acoplados a la proteína G. La unión de la dopamina a sus receptores conduce el acoplamiento con las diferentes proteínas G, esto lleva a la pro-

ducción de múltiples moléculas de señalización celular, tales como las quinasas y las fosfatasa. En este sentido, la activación de los receptores dopaminérgicos acoplados a proteínas G, genera la rápida fosforilación por parte de las proteínas quinasas involucradas y permite el reclutamiento de las proteínas multifuncionales de soporte llamadas “beta-arrestina 1” y “beta-arrestina 2” (β_{Arr1} y β_{Arr2}). La función de estas proteínas consiste en desensibilizar e internalizar al receptor acoplado a la proteína G ¹⁰.

Es decir que cuando la dopamina interactúa sobre sus receptores D_1 y D_2 , activa tanto vías de señalización dependientes de proteínas G como rutas de señalización dependientes de las arrestinas, las cuáles, regulan varias de las funciones dopaminérgicas entre ellas el movimiento. Al desplazar el balance de la señalización del receptor dopaminérgico hacia la ruta de la β -arrestina 2, es posible inducir un movimiento normal y reducir las diskinesias. Cuando ocurre el reclutamiento de la β -arrestina 2 no sólo desensibiliza la señalización de la proteína G sino que también activa una vía de señalización adicional e independiente de las proteínas G para inducir los efectos locomotores normales. De acuerdo a esto, se sugiere que los efectos secundarios de los agonistas dopaminérgicos en los tratamientos de la EP pueden ser disminuidos, al inhibir o reducir la vía de activación de proteínas G, y permitir la activación selectiva de la vía de señalización para los receptores acoplados a la proteína G (GPCRs). Para ello se ha propuesto el desarrollo de agonistas dopaminérgicos de acción dual hacia los receptores D_1 y D_2 , a fin lograr una óptima respuesta motora, libre de movimientos anormales generados por la acción de los agonistas tradicionales en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson ¹¹.

Los derivados del 2-aminoindano-N-aralquílicos han mostrado tener actividad sobre el sistema dopaminérgico central, al inducir respuestas conductuales estereotipadas propias de los receptores D_1 y D_2 ,

ubicados en el sistema límbico y los ganglios basales¹²⁻²⁰. Anteriormente habíamos reportado, que los compuestos clorhidratos del N-[(2,4-diclorofenil)-1-metil-etil]-2-aminoindano **2** y N-[(3,4-diclorofenil)-1-metil-etil]-2-aminoindano **3** (Fig. 2) mostraron actividad agonística a través de mecanismos dopaminérgicos centrales en los estudios farmacológicos *in vivo*, con ratas de la cepa Sprague Dawley²⁰.

En el presente manuscrito se presenta el estudio farmacológico del compuesto clorhidrato de N-[(2,6-diclorofenil)-1-metil-etil]-2-aminoindano **4**, con el propósito de contribuir en la búsqueda de nuevos fármacos capaces de restablecer la homeostasis de la transmisión dopaminérgica en la EP y con una significativa disminución de los efectos secundarios.

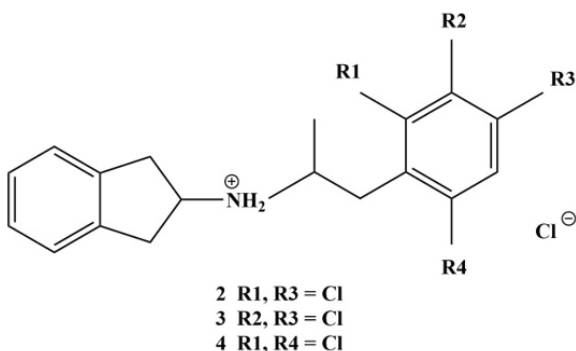


Fig. 2. Compuestos **2**, **3** y **4**.

MATERIAL Y MÉTODOS

El compuesto **4** fue obtenido de acuerdo a la estrategia sintética experimental publicada previamente por nosotros, y su diseño se fundamentó con las aproximaciones farmacofóricas de los profármacos con actividad dopaminérgica²⁰.

Sección farmacológica

Se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dawley de 250 a 300 g, mantenidas bajo períodos alternativos de luz y oscuridad, con libre acceso al agua y alimento

estándar (Ratarina®, Protinal). Cinco días antes del experimento, a cada rata se le implantó una cánula metálica en el ventrículo lateral-derecho, bajo anestesia con cilazina (Setton® al 2%) (1mg/Kg, i.p.) y relajación con ketamina, según las coordenadas: antero-posterior -0,40 mm del Bregma, 1,2 mm lateral y 3 mm ventral. Las cánulas empleadas como guía para la introducción de la aguja de inyección intracerebroventricular (ICV) se fabricaron utilizando agujas 20G con un largo inferior a 4 mm, selladas con silicona y fijadas al cráneo permanentemente con cemento acrílico. La inyección ICV se realizó utilizando una inyectora Hamilton de 10μL provista de un tope para aplicación precisa de los compuestos.

Protocolo para la evaluación de la conducta estereotipada

La conducta estereotipada, definida como una actividad motora repetitiva y sin propósito²¹, se evaluó mediante observación, para lo cual se colocó cada animal dentro de una caja de acrílico transparente con las siguientes dimensiones: 32x28x28 cm., con un periodo previo de 15 minutos de habituación. Las observaciones se realizaron durante 60 minutos, divididos en 10 intervalos de 6 minutos cada uno. Para cada una de las pruebas, se utilizaron grupos de cuatro animales y las conductas evaluadas fueron: lamidas, roídas, olfateos y acicalamientos. Los datos recolectados se registraron empleando una computadora dotada de un software para contar el número de movimientos estereotipados.

Protocolo de administración de los compuestos evaluados

El compuesto **4** fue disuelto en solución salina fisiológica y se administró vía ICV en un volumen de inyección de 5μL, a la dosis de 50μg/5μL. Como control se utilizó solución salina (5μL). Se emplearon cuatro animales por cada grupo experimental. Todos los pretratamientos fueron realizados por vía intraperitoneal, 15 minutos antes de la

administración ICV del compuesto 4 o de solución salina, y fueron los siguientes: 1. Haloperidol (1mg/Kg) (Haldol 50mg/mL, solución inyectable, Janssen Pharmaceuticals, Inc), antagonista de los receptores dopaminérgicos; 2. Ziprasidona (1mg/ Kg) (GeodonR, Laboratorios Pfizer), antipsicótico atípico; 3. Bupiriona (1mg/Kg) (Clorhidrato de bupiriona, Buspar, comprimidos de 20 mg, Dalpas®, Biotech Laboratorios), un agonista parcial de los receptores de serotonina (5HT1a) y antagonista de los receptores D₂; 4. Apomorfina (1mg/Kg) (APO-go PEN 10 mg/mL, solución inyectable), agonista dopaminérgico D₁-D₂¹²⁻²⁰. Cabe señalar que los compuestos se inyectaron por la vía ICV, ya que ello permite: 1) atravesar la barrera hemato-encefálica, la cual impide la entrada de ciertos tipos de compuestos, especialmente polares, al cerebro; 2) reducir las dosis y consecuentemente disminuir la cantidad de compuestos que necesitan ser sintetizados para las pruebas biológicas.

Protocolo de la denervación dopaminérgica central

A un grupo de ratas canuladas ICV se le realizó una lesión con 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (Sigma Aldrich, Saint Louis, MO) (112 mM, pH=7,4). Para ello se inyectó la solución neurotóxica en el ventrículo lateral derecho a una dosis de 200 µg/5µL, 48 y 72 h previas a la administración-ICV del compuesto 4 (50µg/5µL, n=4). Como control se usó solución salina (5µL, n=4).

Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como la media ± E.E.M. Los datos fueron evaluados mediante el análisis de varianza de una y dos vías (ANOVA) y la prueba de Newman-Keuls²². Un valor de p<0,05 fue considerado significativo. El análisis de los resultados y la elaboración de los gráficos se realizaron empleando el programa GraphPad Prism versión 5.1.

RESULTADOS

Efecto del compuesto 4 administrado por vía ICV sobre la conducta estereotipada en ratas. Efecto del pretratamiento con haloperidol, bupiriona y ziprasidona.

La posible participación del compuesto 4 sobre el sistema dopaminérgico central está avalada por los resultados farmacológicos que se presentan en la Fig. 3, cuando se administró vía ICV, bajo la dosis de 50µg/5µL. Observamos que el mismo, ejerció aumentos significativos en las cuatro conductas estereotipadas evaluadas, siendo éstas bloqueadas por el pretratamiento del antipsicótico típico, haloperidol. En cuanto al pre-tratamiento con ziprasidona se observaron, incrementos significativos en las lamidas y en los acicalamientos, en contraste a las dos conductas basales, roídas y olfateos. Cuando se realizó la denervación presináptica vía ICV con la neurotoxina 6-OHDA, sólo aumentó significativamente la conducta de olfateos, mientras que las lamidas, los acicalamientos y las roídas disminuyeron de manera significativa, comparadas con las ratas no denervadas. También se observó el bloqueo de las cuatro conductas evaluadas en el pretratamiento con la bupiriona a las dosis de 50µg/5µL y 5µg/5µL, respectivamente.

DISCUSIÓN

La evaluación farmacológica realizada sobre el compuesto de estudio, se basó en el cambio que este ejerce sobre las conductas estereotipadas en las ratas de experimentación "Sprague- Dawley", después de la administración intracerebroventricular. La estereotipia consiste en un comportamiento excesivo y repetitivo siendo el principal componente de varios desórdenes psiquiátricos, incluidos el autismo infantil y la esquizofrenia²³⁻²⁵. Se ha establecido que la estereotipia (olfateos y roídas) es un comportamiento dependiente de la dopamina, que se debe a las proyecciones dopaminérgicas de la región

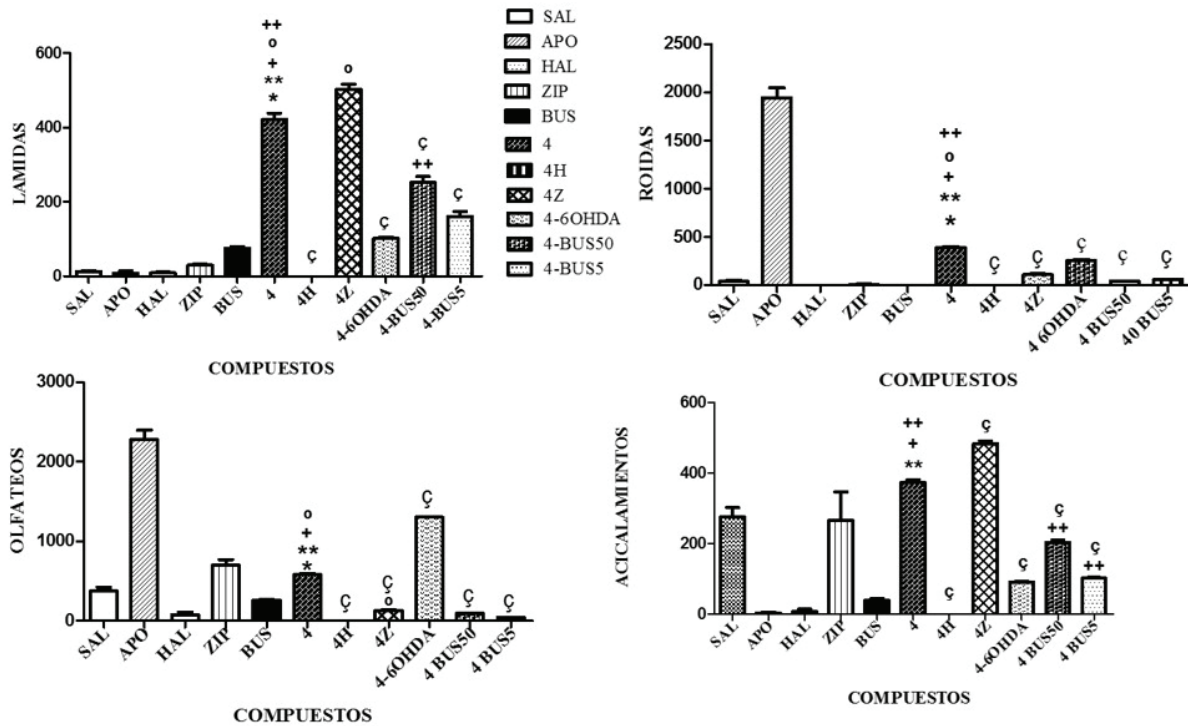


Fig. 3. Efecto del compuesto 4 ($50\mu\text{g}/5\mu\text{L}$) y ($5\mu\text{g}/5\mu\text{L}$) sólo en el pretratamiento con buspirona sobre la conducta estereotipada en ratas. En las ordenadas, la suma de las conductas medidas. En las abscisas, los compuestos probados. Las observaciones se realizaron por una hora. Los resultados se expresaron como promedio \pm eep de cuatro mediciones independientes. Los datos fueron analizados mediante análisis de variancia (ANOVA) de una vía y la prueba de Newman-Keul $n=$ cuatro animales por grupo. *diferencia significativa (ds) vs salina (SAL); **ds vs apomorfina (APO); + ds vs haloperidol (HAL); °ds vs ziprasidona (ZIP); ++ds vs buspirona (BUS); ç ds vs compuestos 4 ($50\mu\text{g}$); ç ds vs compuestos 4 ($5\mu\text{g}$). $P \leq 0,05$.

de los núcleos caudado y putamen; además constituye el sustrato neural del comportamiento estereotipado inducido por la apomorfina, un agonista mixto de los receptores de dopamina D_1 - D_2 , en animales²⁶. La activación de los receptores de dopamina D_1 - D_2 localizados en el núcleo estriado se expresa como un aumento de las roídas y los olfateos, cuyas respuestas son propias del sistema extrapiramidal, en cambio la activación de estos receptores en el sistema límbico induce la conducta estereotipada de lamidas y acicalamientos²³⁻²⁷.

El agonista dopaminérgico apomorfina y el antagonista haloperidol (antipsicótico típico) interactúan a través los receptores

D_1 - D_2 . La ziprasidona es un antagonista dopaminérgico y se diferencia del haloperidol por ser un antipsicótico atípico que bloquea los receptores $5HT_{2a}$ y D_2 , en una proporción de 8:1 respectivamente, como también al receptor $5HT_{2c}$, además de ser un agonista en el receptor $5HT_{1a}$ ²⁸. La buspirona (azaspirodecanediona) es un ansiolítico no benzodiazepínico, agonista parcial postsináptico de los receptores $5HT_{1a}$ y antagonista del receptor D_2 ²⁹.

En el presente estudio se demostró que la administración central (ICV) del compuesto 4 indujo un comportamiento estereotipado a nivel del sistema extrapiramidal (roídas y olfateos) y en el sistema límbico

(acicalamientos y lamidas). El hecho que el haloperidol (antagonista no selectivo) bloqueó las conductas estereotipadas inducidas por el compuesto **4** demuestra su acción dopaminérgica en ambos sitios. Por otra parte, el pretratamiento con la ziprasidona, incrementó las respuestas conductuales lamidas y acicalamientos, propios del sistema límbico y disminuyó las conductas basales (roídas y olfateos). Estos resultados están en concordancia con lo reportado por Ángel y col.^{15,18-20,30,31}, quienes demostraron que la adición de ziprasidona aumenta las lamidas y los acicalamientos. Se ha demostrado que los antipsicóticos atípicos ziprasidona y clozapina, bloquean las conductas estereotipadas ejercidas por la apomorfina, e inducen un aumento en las lamidas y los acicalamientos. Esto es debido al aumento del tono dopaminérgico en la corteza prefrontal (sistema mesocortical) cuando de forma concomitante se activan y se bloquean los receptores $5HT_{1a}$ y $5HT_{2a}$, respectivamente, mientras que a nivel del sistema mesolímbico reducen la transmisión dopaminérgica al bloquear los receptores D_2 ³².

En general, en el sistema meso-córtico-límbico, la activación de los receptores $5-HT_{2a}$ puede facilitar la liberación de dopamina (DA) en condiciones de estimulación, pero no en condiciones basales; mientras que la activación del receptor $5-HT_{2c}$ inhibe la actividad dopaminérgica y la liberación de DA³³. Por lo tanto, el aumento en los acicalamientos y las lamidas inducidos por el compuesto **4** en presencia de ziprasidona, se podrían interpretar como la interacción agonística y antagónica sobre los receptores $5HT_{1a}$ y $5HT_{2c}$ respectivamente, aumentando la activación dopaminérgica a nivel del sistema límbico en concomitancia con la acción “per se” del compuesto en estudio. Se descartaría la participación del receptor $5-HT_{2a}$ ya que su intervención ocurre en un sistema dopaminérgico estriatal estimulado, y aquí no fue el caso.

A fin de dilucidar el sitio de acción del compuesto **4**, se empleó la denervación dopa-

minérgica selectiva con 6OHDA, considerada como método rutinario para la destrucción de los terminales nerviosos catecolaminérgicos en el sistema nervioso central, ampliamente empleado para inducir la Enfermedad de Parkinson experimental³³⁻³⁶. Los resultados presentes demuestran que la denervación dopaminérgica no alteró significativamente la respuesta estereotipada inducida por el compuesto **4**, ya que sólo se redujeron parcialmente las lamidas y los acicalamientos, y aumentaron notablemente los olfateos inducidos por la vía ICV. Estos hallazgos parecen indicar que la actividad del compuesto **4** ocurre principalmente sobre el receptor postsináptico, y que para que se dé esta respuesta dopaminérgica central, debe ocurrir la bioactivación metabólica previa del compuesto evaluado, puesto que de lo contrario no podría formarse el farmacóforo sobre el compuesto **4**, y sería incapaz de interactuar con el receptor postsináptico como agonista. Es importante mencionar que en nuestro protocolo experimental no fue posible cuantificar el contenido de dopamina en las áreas de interés, como son el núcleo accumbens y el estriado. Se ha demostrado que la inyección intracerebral de 6-OHDA, produce una destrucción selectiva de las neuronas dopaminérgicas nigrales de los terminales estriatales y una depleción en los niveles de dopamina, serotonina, encefalina y sustancia P estriatales. Así mismo, se genera la máxima reducción de las concentraciones de dopamina entre el tercer y el cuarto día tras la inyección. La degeneración neuronal afecta por igual tanto a las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra “pars compacta” que proyectan al estriado como a las del área tegmental ventral, que forman parte del sistema mesolímbico³⁷. Por ello, al no determinarse la concentración de DA en las áreas cerebrales de interés queda la posibilidad, aunque poco probable en nuestro caso, de que la denervación no haya sido totalmente efectiva y por lo tanto el compuesto **4** podría haber actuado parcialmente a nivel presináptico.

Por otro lado, parte de la respuesta agonística dopaminérgica resultante por la acción del compuesto **4** podría estar mediada sobre las neuronas serotoninérgicas. Para evaluar esta posibilidad se empleó el pretratamiento con la buspirona, un agonista parcial del receptor $5HT_{1a}$ postsináptico, esperando que la respuesta farmacológica resultante entre un agonista parcial y uno total, fuese un antagonismo a alta dosis y un agonismo a baja dosis^{29,38}. Si el compuesto **4** seguía este comportamiento, indicaría que su actividad era resultante de su agonismo $5HT_{1a}$. Los agonistas del receptor $5HT_{1a}$, aumentan la liberación de dopamina a nivel central. Nuestros resultados revelaron que la respuesta conductual estereotipada del compuesto **4** con la buspirona, no siguió el patrón mostrado entre un agonista parcial y un agonista total, y la respuesta farmacológica obtenida indicó que no está actuando sobre el receptor $5HT_{1a}$. Por ello, las respuestas estereotipadas parecen ser netamente dopaminérgicas, ya que ambas dosis inhibieron en las cuatro conductas estereotipadas. La buspirona, además de ser agonista parcial $5HT_{1a}$, es un antagonista D_2 ²⁹. Ello explicaría la respuesta antagonista observada frente a la acción agonística del compuesto **4**.

En vista que el compuesto **4** fue administrado vía intracerebroventricular y que la mayor parte del sistema ventricular está relacionado con el sistema límbico, y sólo en los ventrículos laterales hay estructuras basales, es posible que la totalidad de las conductas observadas sean límbicas (lamidas y acicalamientos), mientras que las conductas basales (roídas y olfateos) fueron separadas. Además, los ventrículos laterales son los más grandes y por ende hay mayor área de contacto, para el intercambio de sustratos y metabolitos entre el líquido cefalorraquídeo y el cerebro.

Diversos mecanismos podrían explicar el efecto farmacológico. Efectivamente el compuesto **4** fue administrado en el ventrículo lateral-derecho y en dicha cavidad

gran cantidad del mismo es difundido hacia el cerebro, donde entra en contacto con las estructuras límbicas y basales que limitan con el ventrículo. El compuesto **4** podría aumentar la liberación de DA endógena por su acción indirecta sobre la neurona presináptica, en vista que el anillo indano, contiene el fragmento farmacofórico feniletilamino, el cual es el responsable de que ocurra la depleción del neurotransmisor; así mismo el compuesto **4** podría activarse metabólicamente a través de una monooxigenasa al incorporar el oxidrilo en el anillo bencénico del indano en posición meta, para que de esa forma se genere el fragmento m-hidroxifeniletilamino, siendo este el farmacoforo responsable de la unión con el receptor D_2 (Fig. 4). Es por ello que en ratas normales o lesionadas se observaron las respuestas agonísticas dopaminérgicas, ya que en las ratas normales se apreciaron las dos conductas límbicas (lamidas y acicalamientos) y las dos basales (roídas y olfateos) a la dosis de $50\mu\text{g}/5\mu\text{L}$, mientras que cuando las ratas fueron desnervadas, la acción del compuesto **4** fue postsináptica a la dosis de $50\mu\text{g}/5\mu\text{L}$, y se redujeron parcialmente las dos conductas límbicas y se incrementó sólo los olfateos, siendo una conducta basal; al parecer el compuesto **4** tiene mayor afinidad por las estructuras basales presente en el sistema ventricular. En la ruta hacia el cuarto ventrículo hay estructuras límbicas que pueden ser estimuladas por la absorción de una parte del remanente del compuesto en estudio, y el restante al alcanzar el cuarto ventrículo es absorbido e interactúa sobre estructuras hipotalámicas e infundibular. Posiblemente, las respuestas farmacológicas mostradas están ocurriendo, por la absorción en el ventrículo lateral-derecho. El presente resultado demostró que la acción agonista a través de mecanismos dopaminérgicos ejercida por el compuesto **4** no proviene de la acción presináptica, ya que hubo aumento significativo en la conducta estereotipada olfateos, después de la denervación.

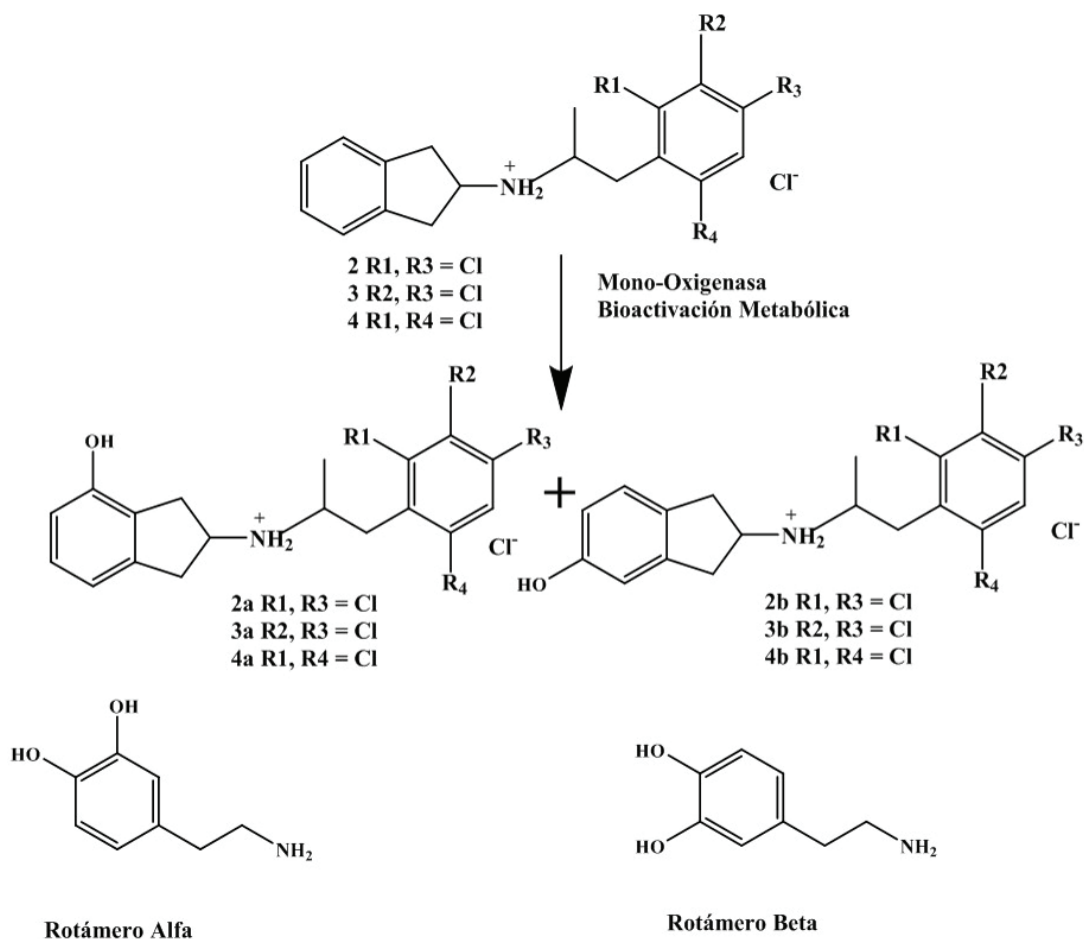


Fig. 4. Posible bioactivación metabólica de los compuestos 2, 3 y 4 (formas inactivas). Los compuestos 2a-b, 3a-b y 4a-b son las formas activas.

Por otro lado, las respuestas conductuales estereotipadas son producto de la activación de los receptores dopaminérgicos D_1 y D_2 a nivel central, siendo el receptor D_1 quien estimula la conducta roída mientras que las lamidas, los olfateos y los acicalamientos se explican por la estimulación del receptor D_2 ³⁹. Nuestros hallazgos sugieren evidencias farmacológicas indican que la acción dopaminérgica ejercida por el compuesto 4 está mediada por la activación de ambos tipos de receptores (D_1 - D_2) en ratas normales, mientras que en ratas lesionadas interviene el receptor (D_2).

El aumento en las cuatro conductas estudiadas podría explicarse por la acción

del compuesto 4, en sus formas no activada y activada, sobre los receptores (D_1 - D_2). En la forma no activada el compuesto 4 estimularía la liberación de DA endógena por su acción indirecta sobre la neurona presináptica, puesto que el anillo indano contiene el fragmento farmacofórico feniletilamino, y es esta dopamina endógena la que interactúa con los receptores D_1 en el terminal postsináptico, y se expresa como el aumento de la conducta roída. En cambio, con la activación metabólica de la forma inactiva, se incorpora el grupo oxidrilo en el anillo bencénico del indano, generando la forma activa del compuesto 4 que contiene el fragmento farmacofórico "m-hidroxifeniletila-

mino" responsable de la unión al receptor dopaminérgico D_2 y expresar las conductas lamidas, acicalamiento y olfateos ⁴⁰.

Al considerar el grupo de ratas que recibió 6OHDA, nuestros hallazgos demuestran que la denervación dopaminérgica central incrementa significativamente la acción agonista ejercida por el compuesto **4** sobre la conducta basal, olfateo (D_2), lo que parece indicar que la misma está mediada por un mecanismo dopaminérgico independiente de su acción presináptica. Así parece poco probable la participación de mecanismos presinápticos, debido a la denervación presináptica previa.

Al tomar en cuenta de que los receptores D_1 requieren de la presencia de dos grupos -OH (en posición meta y para) y los D_2 son menos específicos y requieren únicamente del -OH en posición meta ⁴⁰, es posible explicar que el aumento de la conducta estereotipada roída (en ratas sanas) es la resultante de la activación del receptor D_1 por la dopamina endógena, cuando es liberada desde los terminales presinápticos, pero contrariamente en ratas lesionadas presinápticamente, esta conducta estereotipada no se observó. Efectivamente, bajo la forma metabolizada, el compuesto **4** (Fig. 4) activa los receptores D_2 , por tener dentro de su estructura el farmacóforo (m-hidroxifeniletilamino), la cual induce las conductas estereotipadas lamidas, acicalamiento y olfateo ³⁹.

En resumen, el compuesto **4** fue diseñado como un profármaco de acuerdo a las aproximaciones farmacofóricas consideradas en la química medicinal y su evaluación farmacológica reveló poseer actividad agonística a través de la activación de los mecanismos dopaminérgicos centrales. El hecho de mostrar selectividad en las respuestas conductuales propias de los ganglios basales sobre las estructuras límbicas, nos permite incluirlo en el grupo de nuevos agentes capaces de contrarrestar las enfermedades neurodegenerativas, específicamente la enfermedad de Parkinson.

AGRADECIMIENTO

El autor dedica este manuscrito a la Memoria de su Padre, Sr. Alvaro Angel Rangel (11-05-1931 / 24-05-2021 †).

Financiamiento

Proyecto FDI N°02-2017, Programa CONDES-CC-0239-17 y CONDES-CC-0378-15.

Conflicto de interés

No existe ningún conflicto de interés.

Números ORCID de los autores

- Marienmy del V. Velasquez (MVV):
0000-0001-7327-166X
- Alexander E. Albarracin (AEA):
0000-0002-5014-2280
- Kelvin Boscán (KV):
0000-0002-3520-7664
- Ligia B. Angel (LBA):
0000-0003-3324-6202
- Rodolfo E. Izquierdo (REI):
0000-0002-2978-8693
- María M. Ramírez (MMR):
0000-0001-5894-0706
- Biagina del C. Migliore (BCM):
0000-0002-7993-8389
- Jaime E. Charris (JEC):
0000-0003-44042619
- María del R. Garrido (MRG):
0000-0001-9662-4405
- Anita Israel (AI):
0000-0003-1812-0759
- Simón E. López (SEL):
0000-0002-4326-129X
- Jorge E. Angel (JEA)
0000-0002-2423-3285

Contribución de los autores

- MVV y AEA realizaron la parte experimental tanto de síntesis como farmacológica
- KB, LBA, REI, MMR, BCM y JEA diseño, síntesis y evaluación farmacológica del compuesto.
- JEC, MRG, AI y SEL participaron activamente en la toma de los espectros del compuesto, obtención de los animales para la parte de la evaluación farmacológica, ayuda económica, colaboración en la revisión del manuscrito y correcciones iniciales y la traducción en el caso que se ameritaba del manuscrito.

REFERENCIAS

1. **Sachar B, Zuk R, Gazawi H, Ljubuncic P.** Dopamine toxicity involves mitochondrial complex I inhibition: implications to dopamine-related neuropsychiatric disorders. *Biochem Pharmacol* 2004; 67(10): 1965-1974. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.02.015>
2. **Beaulieu J, Gainetdinov R.** The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev* 2011; 63(1): 182-217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>
3. **Brichta L, Greengard P, Flajolet M.** Advances in the pharmacological treatment of Parkinson's disease: targeting neurotransmitter systems. *Trends Neurosci* 2013; 36(9): 543-554. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.06.003>
4. **Aono M, Iga J, Ueno S, Agawa M, Tsuda T, Ohmori T.** Neuropsychological and psychiatric assessments following bilateral deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Japanese patients with Parkinson's disease. *J Clin Neurosci* 2014; 21(9): 1595-1598. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2013.12.020>
5. **Zhang C, Han Q, Chen N, Yuan Y.** Research on developing drugs for Parkinson's disease. *Brain Res Bull* 2021; 168: 100-109. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2020.12.017>
6. **Krishnan S, Pisharady KK.** Surgical treatment of levodopa-induced dyskinesia in parkinson's disease. *Ann Indian Acad Neurol* 2017 [citado, 2022 septiembre 15] Disponible en: https://doi.org/10.4103/aian.AIAN_244_17.
7. **Munhoz RP, Cerasa A, Okun MS.** Surgical treatment of dyskinesia in Parkinson's disease. *Front Neurol* 2014 [citado, 2022 septiembre 15] Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00065>.
8. **Zhang A, Neumeyer J, Baldessarini R.** Recent progress in development of dopamine receptor subtype-selective agents: potential therapeutics for neurological and psychiatric disorders. *Chem Rev* 2007; 107(1): 274-302. <https://doi.org/10.1021/cr050263h>
9. **Ross C, Margolis R.** Neurogenetics: insights into degenerative diseases and approaches to schizophrenia. *Clin Neurosci Res* 2005; 5(1): 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.cnr.2005.07.001>
10. **Del'guidice T, Lemasson M, Beaulieu JM.** Role of beta-arrestin 2 downstream of dopamine receptors in the basal ganglia. *Front Neuroanat* 2011 [citado, 2022 septiembre 15] Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fnana.2011.00058>.
11. **Park H, Urs A, Zimmerman J, Liu C, Wang Q, Urs N.** Structure-functional-selectivity relationship studies of novel apomorphine analogs to develop D1R/D2R biased ligands. *ACS Med Chem Lett* 2020; 11(3): 385-392. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.9b00575>
12. **Charris J, Perez J, Domínguez J, Ángel J, Duerto J, Salazar M, Acosta H.** N-aralkyl substitution of 2-aminoindans. Synthesis and their inotropic and chronotropic activity in isolated guinea pig atria. *Chem Inform Abstr* 1998; 29(14): 0-0. <https://doi.org/10.1002/chin.199814095>.
13. **Rodríguez L, Medina Y, Suárez H, Migliore B, Israel A, Charris J, López S, Caldera J, Ángel J.** Conformational theoretical study of substituted and non-substituted N-aralkyl-2-aminoindans and its relation with dopaminergic activity. *J Mol Struct THEOCHEM* 2003; 636(1-3): 1-8. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(03\)00023-X](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(03)00023-X).
14. **Ángel J, Charris J, Israel A, Migliore B, Suárez H, Garrido M, López S, Díaz E, Fer-**

- rer R, Michelena E, Rodríguez L, Silva J, Moronta A, Espinoza G, Quintero L. Perfil dopaminérgico del compuesto 2-aminoindano-N-aralquil sustituido. *Arch Venezol Terap Farmacol* 2004; 23(2): 136-142.
15. Andujar S, Garibotto F, Migliore B, Ángel J, Charris J, Enriz R. Molecular recognition and binding mechanism of N-aralkyl substituted 2-aminoindans to the dopamine D2 receptor. A theoretical study. *J Argent Chem Soc* 2006; 94: 1-11.
 16. Ángel J. Una compilación en el diseño y evaluación farmacológica preliminar de nuevos compuestos con actividad dopaminérgica central. *Invest Clin* 2008; 49(1): 71-73.
 17. Andujar S, Migliore B, Charris J, Israel A, Suárez H, López S, Garrido M, Cabrera E, Visbal G, Rosales C, Suvire F, Enriz R, Ángel J. Synthesis, dopaminergic profile and molecular dynamics calculations of N-Aralkyl substituted 2-aminoindans. *Bioorg Med Chem* 2008; 16(6): 3233-3244. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.12.027>
 18. Ferrer R, Urdaneta N, Porta N, Rodríguez L, Rosales C, Espinoza G, Ángel L, Balza K, Perdomo L, Faría A, Dabian A, Zapata M, Linero A, Acurero G, Israel A, Garrido M, Suárez H, Migliore B, López S, Charris J, Ramírez M, Ángel J. Novedosos agentes dopaminérgicos centrales derivados del 2-aminoindano-4,7disustituido atípico. Síntesis y perfil farmacológico central. *Invest Clin* 2015; 56(2): 137-154.
 19. Perdomo L, Balza K, Acurero G, Ángel L, Dabian A, Faría A, Linero A, Zapata M, Vera M, Migliore, Suárez H, Israel A, Charris J, López S, Ramírez M, Ángel J. Design, synthesis and preliminary pharmacologic evaluation of 2-aminoindane-quinoline analogues as dopaminergic agents. *Der Pharma Chem* 2015; 7(5): 130-135.
 20. Montero L, Velásquez M, Caldera J, Vera M, Blanco C, Ángel L, Migliore B, Charris J, Israel A, López S, Izquierdo R, Ortega J, Ramírez M, Ángel J. Síntesis y evaluación farmacológica de los novedosos agentes dopaminérgicos centrales análogos del N-dicloroaralquil-2-aminoindano. *Rev Fac Farm* 2018; 81(1-2): 41-50.
 21. Castall B, Marsden CD, Naylor RJ, Pycock CJ. Stereotyped behavior patterns and hyperactivity induced by amphetamine and apomorphine after discrete 6-hydroxydopamine lesions of extrapyramidal and mesolimbic nuclei. *Brain Res* 1977; 123(1): 89-111. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(77\)90645-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(77)90645-X).
 22. Snedecord G, Cochran W. *Statistical Methods*. 7th Ed USA: Iowa State University Press Ames; 1982.
 23. Costall B, Naylor RJ, Cannon JG, Lee TJ. Differentiation of the dopamine mechanisms mediating stereotyped behavior and hyperactivity in the nucleus accumbens and caudate-putamen. *J Pharm Pharmacol* 1977; 29(1): 337-342. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1977.tb11331.x>
 24. Creese L, Iversen SD. The pharmacological and anatomical substrates of the amphetamine response in the rat. *Brain Res* 1975; 83(3): 419-436. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(75\)90834-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(75)90834-3)
 25. Chartoff EH, Marek BT, Matsumoto AM, Dorsa DM, Palmiter RD. Induction of stereotypy in dopamine-deficient mice requires striatal D1 receptor activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(18): 10451-10456. <https://doi.org/10.1073/pnas.181356498>
 26. Israel A, Torres M, Cierco M, Barbella Y. Further evidence for a dopaminergic involvement in the renal action of centrally administered atrial natriuretic peptide in rats. *Brain Res Bull* 1991; 27(5): 739-742. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(91\)90056-P](https://doi.org/10.1016/0361-9230(91)90056-P)
 27. Orfila L, Ángel J, Torres M, Barbella Y, Israel A. Evidence for a dopaminergic involvement in the renal action of centrally administered JA116a, a novel compound with possible dopaminergic activity in rats. *J Pharm Pharmacol* 1994; 46(5): 397-399. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1994.tb03825.x>
 28. Seeger TF, Seymour PA, Schmidt AW, Zorn SH, Schulz DW, Lebel LA, McLean S, Gnanowsky V, Howard HR, Lowe JA. Ziprasidone (CP-88,059): A new antipsychotic with combined dopamine and serotonin receptor antagonist activity. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 275(1): 101-113.
 29. Murphy S, Owen R, Tyrer P. Comparative assessment of efficacy and withdrawal symptoms after 6 and 12 weeks treatment with diazepam or buspirone. *Br J Psychiatry*

- try 1989; 154(4): 529-534. <https://doi.org/10.1192/bjp.154.4.529>.
30. **Ángel J, Santiago A, Rossi R, Migliore B, Barolo S, Andujar S, Hernández V, Rosales C, Charris J E, Suarez H, Israel A, Ramírez MM, Ortega J, Herrera Cano N, Enriz RD.** Synthesis and preliminary pharmacological evaluation of methoxylated indoles with possible dopaminergic central action. *Lat Am J Pharm* 2011; 30(10): 1934-1942.
 31. **Ángel LB, Balza K, Perdomo LE, Dabian AS, Faría AR, Linero AR, Migliore B, Suárez H, Charris J, Israel A, Ramírez MM, Ángel JE.** Síntesis y evaluación farmacológica preliminar de nuevos compuestos quinolínicos con actividad anti Corea de Huntington. *Rev Fac Farm* 2015; 78(1-2): 94-100.
 32. **Lucas G, De Deurwaerdère P, Caccia S, Spampinato U.** The effect of serotonergic agents on haloperidol-induced striatal dopamine release in vivo: opposite role of 5-HT_{2a} and 5-HT_{2c} receptor subtypes and significance of the haloperidol dose used. *Neuropharmacology* 2000; 39(6): 1053-1963. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(99\)00193-8](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(99)00193-8)
 33. **Simola N, Morelli M, Carta AR.** The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Neurotox Res* 2007; 11(3-4): 151-167. <https://doi.org/10.1007/BF03033565>.
 34. **Thoenen H, Tranzer JP.** Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-Hydroxydopamine. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Exp Pathol Pharmacol* 1968; 261(3): 271-288. <https://doi.org/10.1007/BF00536990>.
 35. **Jeon BS, Jackson-Lewis SV, Burke RE.** 6-Hydroxydopamine lesion of the rat substantia nigra: time course and morphology of cell death. *Neurodegeneration* 1995; 4(2): 131-137. <https://doi.org/10.1006/neur.1995.0016>
 36. **Ungerstedt U.** 6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol* 1968; 5(1): 107-110. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(68\)90164-7](https://doi.org/10.1016/0014-2999(68)90164-7)
 37. **Meltzer HY.** Serotonergic mechanisms as targets for existing and novel antipsychotics. *Handb Exp Pharmacol* 2012; 212: 87-124. https://doi.org/10.1007/978-3-642-25761-2_4
 38. **Ushijima I, Carino M, Horita A.** Involvement of D1 and D2 dopamine systems in the behavioral effects of cocaine in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1995; 52(4): 737-741. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)00167-U](https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)00167-U).
 39. **Molloy AG, Waddington JL.** Dopaminergic behavior stereospecifically promoted by the D₁ agonist R-SK & F38393 and selectively blocked by the D₁ antagonist SCH 23390. *Psychopharmacology* 1984; 82(4): 409-410. <https://doi.org/10.1007/BF00427697>.
 40. **Nichols DE.** The development of novel dopamine agonists. *ACS Symp Ser Am Chem Soc* 1983; 224(9): 201-221. <https://doi.org/10.1021/bk-1983-0224.ch009>.

Evaluación del desempeño cognitivo en escolares y adolescentes con diabetes mellitus tipo 1.

Yusmary El Kantar¹, Sammy Duran², Roberto Lanes³ y Mariela Paoli¹

¹Servicio de Endocrinología del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA), Mérida, Venezuela.

²Oficina Estatal Antidrogas, Mérida, Venezuela.

³Unidad de Endocrinología Pediátrica, Hospital de Clínicas Caracas, Caracas, Venezuela.

Palabras clave: diabetes mellitus tipo 1; cognición; test WISC IV; cociente intelectual.

Resumen. El objetivo del trabajo fue evaluar el funcionamiento cognitivo de niños y adolescentes con diabetes mellitus tipo 1 (DM1) de la consulta de Endocrinología del IAHULA, y compararlo al de niños no diabéticos, así como investigar la posible influencia de factores relacionados con la enfermedad sobre la cognición. Se realizó un estudio observacional analítico, transversal, que incluyó un grupo de 30 pacientes con DM1 de 8 a 16 años de edad (16 varones) y un grupo control de 30 individuos pareados por edad, género, escolaridad y condición socioeconómica. Se realizó interrogatorio y revisión de historias clínicas para obtener datos sobre las características clínicas y el tratamiento de la DM1. Se les aplicó el test WISC IV para evaluar cognición y cociente intelectual (CI). La edad promedio de los pacientes fue de $13,27 \pm 2,31$ años, la mitad de ellos masculinos. Se encontraron puntajes menores en los distintos dominios del WISC IV en el grupo con DM1 al compararlos con los del grupo control ($p < 0,01$). El CI fue menor en los niños con DM1 que en los controles ($75,47 \pm 13,87$ frente a $88,57 \pm 11,06$; $p = 0,0001$); así mismo, se observó con mayor frecuencia un puntaje del CI inferior al percentil 10 en los pacientes con DM1 en comparación con los controles (63,3% frente a 33,3%; $p = 0,02$; Odds ratio: 3,45; IC95%: 1,19-9,99). Se concluyó que la DM1 impacta negativamente el desempeño cognitivo de niños y adolescentes. Se recomienda la evaluación cognitiva de estos pacientes, ya que podría repercutir en su vida diaria.

Evaluation of cognitive performance in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus.

Invest Clin 2023; 64 (1): 28 – 40

Keywords: Type 1 diabetes mellitus, cognition, WISC IV test, intellectual coefficient.

Abstract. The study aimed to evaluate the cognitive functioning of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus (T1DM) recruited from the IAHULA Endocrinology Outpatient Unit and to compare it to that of non-diabetics as to investigate the influence on cognition of factors related to the disease. An analytical, cross-sectional observational study was carried out on a group of 30 patients with T1DM between 8 and 16 years of age and on a control group of 30 individuals matched by age, gender, education, and socioeconomic status. Interrogation and review of medical records to obtain data on the clinical characteristics and treatment of T1DM were conducted. The WISC IV test was then applied to evaluate cognition and intellectual coefficient (IQ). The average age of the diabetic patients was 13.27 ± 2.31 years, and half of them were male. Lower scores were found in the different domains of the WISC IV in the group with T1DM ($p < 0.01$). The IQ was found to be lower in children with T1DM than in controls (75.47 ± 13.87 vs. 88.57 ± 11.06 ; $p = 0.0001$). Likewise, a higher frequency of IQ scores below the 10th percentile was observed in the diabetic children (63.3% vs. 33.3%; $p = 0.02$; Odds ratio: 3.45; 95%CI: 1.19-9.99). It was concluded that T1DM negatively impacts the cognitive performance of children and adolescents. Cognitive evaluation of these patients is recommended, as it could affect their daily life.

Recibido: 08-08-2022 Aceptado: 22-09-2022

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) es un trastorno autoinmune, consecuencia de la destrucción gradual de las células β pancreáticas y la incapacidad del individuo para producir insulina, así, quienes la padecen dependen de la administración de insulina exógena para sobrevivir. El inicio de esta patología suele ocurrir durante la niñez y la adolescencia y afecta a casi 15 millones de niños en todo el mundo. En nuestro país la incidencia anual de DM1 es de aproximadamente 0,1 por cada 100.000 habitantes¹. Los efectos deletéreos de la DM sobre el sistema

nervioso periférico, sistema cardiovascular, ocular y renal son ampliamente conocidos, sin embargo, poca atención se ha dado a las consecuencias de este padecimiento sobre la función cognitiva².

La cognición se define como el grupo integrado e interrelacionado de procesos mentales involucrados en la adquisición, comprensión, almacenamiento del conocimiento y su uso en actividades de la vida diaria³. El funcionamiento cognitivo comprende múltiples dominios como la memoria, el lenguaje, la visuopercepción, la percepción, la atención y las funciones ejecutivas que incluyen razonamiento, resolución de

problemas y toma de decisiones, esenciales para todos los aspectos de la existencia cotidiana⁴. Por disfunción cognitiva se entiende cualquier cambio en el funcionamiento cognitivo normal, que puede variar de sutil a severo⁵. Los diferentes aspectos de la función cerebral se evalúan mediante el empleo de pruebas neurocognitivas², entre las cuales, la escala de inteligencia WISC IV (Wechsler Intelligence Scale for Children, Fourth Edition) ha sido una de las más utilizadas en educación e investigación⁶.

Comparados con individuos sin diabetes, los pacientes con DM1 pueden tener reducción de la efectividad en las áreas cognitivas de inteligencia, velocidad de procesamiento de la información, atención y percepción visual⁷; sin embargo, la evidencia correspondiente al impacto de la DM1 sobre la cognición es contradictoria y el debate continúa en relación a la presencia y extensión de la disfunción cognitiva general y de déficits en dominios específicos⁸, así mismo, aún resulta controversial el efecto que sobre la cognición tienen la edad de aparición de la enfermedad, su tiempo de evolución, el tipo de debut, la historia de hipoglucemias severas y el grado de control metabólico. Pese a la diversidad de resultados en las investigaciones y aunque resulta razonable evaluar los potenciales déficits académicos y cognitivos en individuos con DM1, hoy por hoy esto no es parte de la atención clínica rutinaria⁹.

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el desempeño cognitivo de los escolares y adolescentes con DM1 que acuden a la consulta de Endocrinología del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA), en Mérida, Venezuela, y compararlo al de individuos sin DM1. Hasta la fecha no se han realizado estudios de este tipo en nuestro país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos

Se realizó un estudio observacional, analítico, transversal, de campo, con un grupo de 30

niños y adolescentes con diagnóstico de DM1, según los criterios de la Asociación Americana de Diabetes¹⁰, que acudían regularmente a la consulta de Endocrinología del IAHULA. La edad promedio de los pacientes era de $13 \pm 2,31$ años (rango de 8-16 años; 16 varones), todos al menos con 6 meses de evolución de su enfermedad. Un grupo control de 30 individuos pareados para edad, género, IMC, escolaridad y condición socioeconómica, en la mayoría de los casos se trató de familiares o compañeros de clase de los pacientes. Fueron excluidos sujetos con reportes previos de dificultades para el aprendizaje, con alteraciones visuales o auditivas severas, con diagnóstico previo de hipotiroidismo, de enfermedad neurológica, con complicaciones crónicas de la diabetes tales como retinopatía, nefropatía o neuropatía periférica o que recibían medicamentos que pudieran afectar la función cognitiva.

Procedimiento

El paciente y sus padres y/o representante legal firmaron un consentimiento escrito para participar en esta investigación y el estudio fue autorizado por el comité de ética del hospital. Se entrevistó a los representantes y se revisó la historia clínica de los pacientes para obtener la siguiente información:

- Antecedentes obstétricos, perinatales y del desarrollo psicomotor en los primeros años de vida.
- Nivel socioeconómico, que se expresó según puntaje en la escala de Graffar modificado¹¹.
- Edad al momento del diagnóstico en años.
- Duración de la enfermedad expresada en años.
- Dosis total diaria de insulina, esquema de tratamiento y tipos de insulinas que recibía.
- Si debutó con cetoacidosis diabética (CAD)¹² y el número de hospitalizaciones por CAD desde el diagnóstico.

- Número de episodios de hipoglucemias severas desde el diagnóstico. Se consideró hipoglucemia severa como aquel episodio asociado a deterioro del nivel de consciencia que requirió de la asistencia de otra persona para recuperarse ¹³.
- Grado de control glucémico estimado por el promedio del registro de glucometría capilar diaria en el hogar durante el último mes y/o por el resultado más reciente de hemoglobina glucosilada (HbA1c), cuando estaba disponible. Se clasificó como bueno si las glucemias en ayunas estaban entre 80 y 130 mg/dL, las de hora sueño entre 90 y 150 mg/dL y/o la HbA1c era inferior a 7,5%, de acuerdo con los criterios de la Asociación Americana de Diabetes ¹⁴, y como malo si superaba esos valores.
- Nivel de escolaridad, tipo de institución, pública o privada, donde cursa sus estudios y rendimiento académico en el periodo escolar anterior, el cual se expresó de acuerdo a la calificación de 1 a 20 puntos.

Para valorar el desempeño cognitivo, el psicólogo asesor aplicó las 10 pruebas obligatorias del test WISC IV, estandarización mexicana ⁶, a los participantes diabéticos y a los controles, en sesiones individuales de 60 a 90 minutos de duración, sin tener conocimiento de la condición médica de cada sujeto. Los dominios que evalúa este test son:

1. Comprensión verbal, expresa habilidades de formación de conceptos, relaciones entre conceptos, definición de vocablos, comprensión social, juicio práctico, conocimientos adquiridos y agilidad e intuición verbal.
2. Análisis perceptual, mide la capacidad para interpretar estímulos visuales, formar conceptos abstractos y comunicación no verbal.
3. Memoria operante, evalúa memoria a corto plazo, atención, capacidad numérica y procesamiento auditivo.

4. Velocidad de procesamiento, mide la capacidad para focalizar la atención, explorar, ordenar y discriminar información visual a tiempo controlado y la velocidad psicomotora.

El día que se aplicó el test, todos los individuos se encontraban en periodo postprandial. Fueron pesados y tallados con ropa ligera y se calculó el índice de masa corporal (IMC-kg/m²). Se realizó medición de glucometría capilar pre test en los sujetos con DM1 para descartar hipoglucemias o hiperglucemias severas que pudieran afectar su desenvolvimiento durante la ejecución de la prueba. Se siguió el protocolo establecido en el manual técnico del WISC IV ⁶ para llevar a cabo cada uno de los subtests; los resultados expresados en puntos se trasladaron a una escala previamente establecida dependiendo de la edad del sujeto y con la sumatoria de los puntajes escalares de los 4 dominios se calculó el cociente intelectual (CI) del individuo. El puntaje del CI se categorizó en: deficiente si el resultado era inferior a 70, límite cuando estaba entre 70 y 79, medio bajo si correspondía al rango entre 80 y 89, promedio cuando se encontraba entre 90 y 110 y superior si era mayor a 110. Así mismo, se clasificó el CI en inferior al percentil 10 si el puntaje obtenido por el individuo era menor a 80 y superior o igual al percentil 10 si estaba igual o por encima de 80 ⁶.

Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se expresaron en media y desviación estándar, las variables cualitativas en frecuencia absoluta y porcentajes. Las diferencias entre las medias de las variables cuantitativas se determinaron con test de *t* de Student. La asociación entre variables categóricas se determinó mediante la aplicación del chi cuadrado, y cuando fue pertinente se determinó el *odds ratio* y el intervalo de confianza del 95%. Se realizó un análisis de regresión lineal simple y múltiple para determinar el impacto del diagnóstico de DM1, en comparación con

otras variables, en los resultados del CI. Se aplicaron correlaciones entre los resultados de los diferentes dominios del test WISC IV y del CI con las variables clínicas y paraclínicas de la DM1. Se consideró significancia estadística una $p < 0,05$. Para el procesamiento de la información se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 20.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan las características demográficas y antropométricas de ambos grupos. La mayoría de los participantes pertenecía a los estratos socioeconómicos medio y medio bajo. Se encontró diferencia estadísticamente significativa en la calificación del último año escolar cursado, siendo inferior en el grupo con DM1 (15,91 frente a 17,04 puntos; $p < 0,02$); además, este grupo asistía con mayor frecuencia a instituciones públicas (73,3% frente a 46,7%; $p < 0,03$). No hubo diferencia en las demás variables es-

tudiadas. Con respecto a los pacientes con DM1, la edad mínima al debut fue de 1 año y la máxima de 14 años. La duración promedio de la enfermedad fue de 4 años, dos terceras partes había debutado en CAD. El 36,67% de los pacientes ($n=11$) tenía un buen control metabólico y el 63,33% ($n=19$) un mal control (glucemia en ayunas $125,36 \pm 37,23$ mg/dL frente a $178,36 \pm 56,86$ mg/dL y HbA1c $6,84 \pm 0,39$ frente a $9,84 \pm 1,96$, respectivamente; $p < 0,005$). El 53,3% recibía tratamiento con esquema basal bolo fijo, siendo la insulina cristalina y los análogos de insulina basal los tipos más frecuentemente utilizados.

Con respecto a los antecedentes perinatales, obstétricos y del desarrollo psicomotor, factores que podrían afectar la cognición, no se encontraron diferencias en la edad materna al nacer ($25,67 \pm 5,63$ años en los pacientes y $27,31 \pm 5,48$ en los controles), el peso al nacer ($3.235,33 \pm 460,07$ frente a $3.174,62 \pm 401,69$ g), la talla al na-

Tabla 1

Características demográficas y antropométricas del grupo de pacientes con DM1 y del grupo control.

VARIABLES	Casos n=30	Controles n=30	p
Sexo			
Femenino	14 (46,7)	15 (50,0)	NS
Masculino	16 (53,3)	15 (50,0)	
Edad (años)	$13,27 \pm 2,31$	$13,18 \pm 2,37$	NS
Talla (m)	$1,52 \pm 0,15$	$1,54 \pm 0,15$	NS
Peso (Kg)	$44,99 \pm 13,93$	$46,02 \pm 12,83$	NS
Índice de masa corporal (kg/m ²)	$18,96 \pm 3,11$	$18,82 \pm 2,56$	NS
Condición socio económica			
Media Alta	7 (23,3)	12 (40,0)	NS
Media	12 (40,0)	11 (36,7)	
Media Baja	10 (33,3)	7 (23,3)	
Baja	1 (3,3)	0 (0)	
Institución educativa			
Pública	22 (73,3)	14 (46,7)	0,03*
Privada	8 (26,7)	16 (53,3)	
Calificación último año escolar	$15,91 \pm 1,97$	$17,04 \pm 1,80$	0,02*

Datos de variables categóricas en número y (%) y de variables continuas en $\bar{X} \pm DE$. *Significativo estadísticamente.

cer ($49,63 \pm 2,09$ frente a $48,96 \pm 2,34$ cm), ni en complicaciones del embarazo, de la edad neonatal o del desarrollo psicomotor.

Al comparar los promedios de los resultados obtenidos en las distintas pruebas obligatorias del WISC IV, si bien se evidenciaron puntajes más bajos en el grupo de pacientes con DM1 en todos los subtests, hubo significancia en analogías, razonamiento con figuras, serie de números y letras, matrices y búsqueda de símbolos (Tabla 2). Todos los puntajes promedio en los diferentes dominios del WISC IV, fueron significativamente inferiores en el grupo con DM1 ($p < 0,01$), y el CI fue 13 puntos menor en los pacientes que en los controles ($75,47 \pm 13,87$ frente a $88,57 \pm 11,06$; $p = 0,0001$) (Tabla 3).

En la Tabla 4 se presenta la clasificación de los resultados del CI. En 20% de los pacientes con DM1, el puntaje obtenido correspondió a la categoría deficiente y sólo un 10% alcanzó un resultado catalogado como promedio, mientras que, entre los controles, no hubo casos deficientes y el 50% se encontró en el promedio ($p = 0,002$). Veinte pacientes con DM1 (63,3%) tuvieron resultados inferiores al percentil 10 frente a 10 controles (33,3%) ($p = 0,02$). Al calcular el *odds ratio* se observó que el hecho de padecer DM1 incrementa 3,45 veces el riesgo de obtener un puntaje de CI inferior al percentil 10 (IC95%: 1,19-9,99).

Dado que existía desigualdad entre los grupos con respecto al tipo de institución

Tabla 2

Puntaje de los subtests de la prueba WISC IV en el grupo de pacientes con DM1 y en el grupo control.

Subtests	Casos n=30	Controles n=30	p
Construcción con cubos	31,37 ± 15,45	35,43 ± 12,07	NS
Analogías o semejanzas	16,03 ± 9,17	22,50 ± 8,60	0,007*
Retención de dígitos	14,60 ± 2,54	15,80 ± 3,40	NS
Razonamiento con figuras	14,10 ± 4,06	16,20 ± 3,54	0,03*
Claves	44,20 ± 13,71	47,07 ± 11,95	NS
Vocabulario	23,87 ± 10,66	28,57 ± 11,24	NS
Serie de números y letras	14,60 ± 4,88	17,80 ± 3,69	0,006*
Matrices	16,80 ± 4,82	20,03 ± 5,08	0,01*
Comprensión	20,90 ± 7,70	24,50 ± 8,15	NS
Búsqueda de símbolos	21,77 ± 8,44	26,10 ± 7,06	0,03*

Datos en $\bar{X} \pm DE$. * Significativo estadísticamente.

Tabla 3

Puntajes de los dominios y del cociente intelectual según la prueba WISC IV en el grupo de pacientes con DM1 y en el grupo control.

Dominios	Casos n=30	Controles n=30	p
Comprensión verbal	76,73 ± 16,74	90,10 ± 16,80	0,003*
Análisis Perceptual	78,93 ± 14,18	88,23 ± 12,07	0,008*
Memoria Operante	85,67 ± 14,13	96,23 ± 13,20	0,004*
Velocidad de Procesamiento	81,23 ± 14,59	89,43 ± 10,40	0,01*
Cociente Intelectual	75,47 ± 13,87	88,57 ± 11,06	0,0001*

Datos en $\bar{X} \pm DE$. * Significativo estadísticamente.

Tabla 4
Clasificación del cociente intelectual de acuerdo al manual técnico del WISC IV y al valor del percentil 10 en el grupo de pacientes con DM1 y en el grupo control.

Variables	Casos n=30	Controles n=30	<i>p</i>
Por Puntos:			
Deficiente (<70 pts)	6 (20,0)	0 (0,0)	0,002*
Límite (70-79 pts)	13 (43,3)	10 (33,3)	NS
Medio bajo (80-89 pts)	8 (26,7)	5 (16,7)	NS
Promedio (90-110 pts)	3 (10,0)	15 (50,0)	0,002*
Por Percentil:			
< pc 10	19 (63,3)	10 (33,3)	0,002*
≥ pc 10	11 (36,7)	20 (66,7)	OR: 3,45 IC:1,19-9,99

Datos en número y (%). * Significativo estadísticamente.

donde cursaban estudios, y para aclarar si los resultados en el WISC IV eran consecuencia de ésta diferencia o del diagnóstico de DM1, se realizó un análisis de regresión lineal simple y múltiple, con el CI como variable dependiente y la institución educativa pública o privada y el grupo de pacientes con diabetes o controles como variables independientes. Se encontró que, aunque la institución tuvo significancia en el análisis lineal simple ($p=0,008$), la pierde en el análisis múltiple ($p=0,056$). Por lo tanto, el hecho de cursar con un diagnóstico de DM1 explica más del 26% de las diferencias en el CI ($p=0,001$; $R^2: 0,269$; CoefB: $-11,356$; IC95%: $-17,94$ a $-4,77$).

En el análisis de correlación no hubo significancia entre los valores de HbA1c o de glucemias en ayunas con el CI de los pacientes. Sin embargo, se notó una correlación lineal negativa significativa entre la glucemia pre-test y los resultados de las subpruebas análogas ($r=-0,420$; $p=0,02$), vocabulario ($r=-0,436$; $p=0,016$) y series ($r=-0,466$; $p=0,009$), así como con el puntaje en los dominios comprensión verbal ($r=-0,480$; $p=0,007$), memoria operante ($r=-0,441$; $p=0,01$), y con el CI ($r=-0,489$; $p=0,006$; Fig. 1).

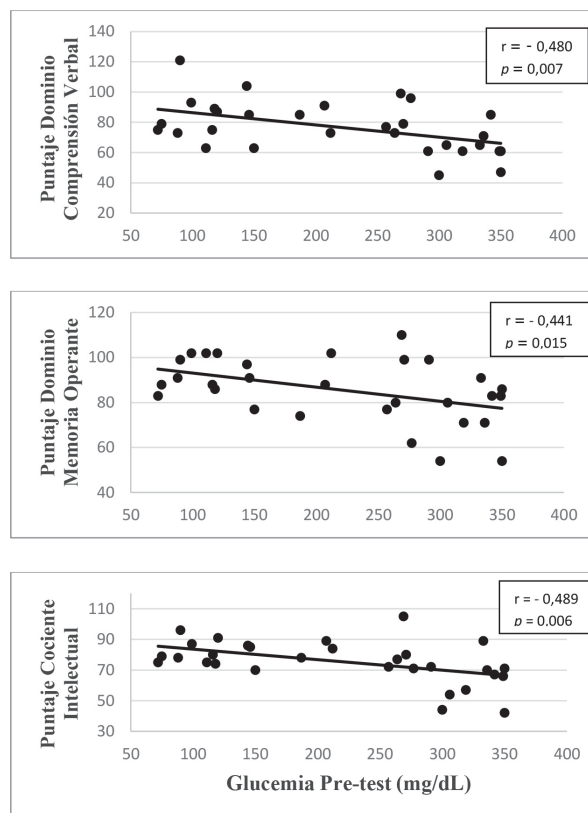


Fig 1. Correlaciones de la glucemia pre-test (mg/dL) con el puntaje de los dominios comprensión verbal (superior), memoria operante (medio) y con el cociente intelectual (inferior).

Para facilitar la comparación de nuestros resultados con los de distintas investigaciones internacionales, los pacientes con DM1 fueron categorizados de acuerdo a variables clínicas como la edad al momento del diagnóstico (≤ 7 o > 7 años), la duración de la enfermedad (≤ 2 o > 2 años), el control metabólico (bueno o malo) y la presentación o no de CAD o hipoglucemias severas después del diagnóstico. El 63,3% fue diagnosticado luego de los 7 años de edad, un poco más del 50% tenía más de 2 años de evolución de la diabetes, el 43,3% había sufrido al menos un episodio de CAD luego del debut, sólo el 20% había experimentado al menos un episodio de hipoglucemia severa. En la Tabla 5 se muestran los promedios de los puntajes

en cada uno de los dominios del WISC IV y del CI en estos subgrupos de pacientes con DM1. Si bien, los pacientes con más de 2 años de evolución de la patología mostraron valores más bajos en la mayoría de los puntajes, solo la memoria operante alcanzó significancia ($p=0,01$), lo que concuerda con un puntaje más bajo en el subtest retención de dígitos en estos pacientes ($13,63 \pm 2,22$ frente a $15,71 \pm 2,94$; $p=0,02$). Aunque no hubo diferencias significativas según el control metabólico, en el subtest series de números y letras, los individuos con DM1 con un buen control alcanzaron un resultado significativamente mejor que los pacientes con mal control ($16,33 \pm 3,37$ frente a $12,87 \pm 5,62$; $p=0,05$). No hubo diferencias en los demás

Tabla 5

Puntajes de los dominios de la prueba WISC IV y del cociente intelectual en el grupo de pacientes con DM1 según características clínicas de la enfermedad.

Categoría	Comprensión verbal	Análisis Perceptual	Memoria Operante	Velocidad de Procesamiento	Cociente Intelectual
Debut					
≤ 7 años n=11	78,91 \pm 20,76	77,73 \pm 12,21	83,09 \pm 12,67	79,45 \pm 13,56	75,00 \pm 14,16
> 7 años n=19	75,47 \pm 14,40	79,63 \pm 15,49	87,16 \pm 15,04	82,26 \pm 15,42	75,74 \pm 14,08
Tipo de Debut					
En CAD n=20	77,45 \pm 18,38	77,45 \pm 15,25	85,30 \pm 14,92	80,05 \pm 15,79	75,05 \pm 15,67
Sin CAD n=10	75,30 \pm 13,65	81,90 \pm 11,95	86,40 \pm 13,14	83,60 \pm 12,27	76,30 \pm 10,02
Duración					
≤ 2 años n=14	75,00 \pm 13,24	81,86 \pm 16,37	92,36 \pm 10,95	84,36 \pm 15,55	78,00 \pm 13,63
> 2 años n=16	78,25 \pm 19,60	76,38 \pm 11,91	79,81 \pm 14,28*	78,50 \pm 13,60	73,25 \pm 14,13
Control metabólico					
Bueno n=11	80,18 \pm 13,03	80,36 \pm 13,88	86,73 \pm 9,03	80,09 \pm 10,47	76,73 \pm 9,89
Malo n=19	74,74 \pm 18,56	78,11 \pm 14,67	85,05 \pm 16,59	81,89 \pm 16,76	74,74 \pm 15,94
CAD post diagnóstico					
Sí n=13	75,08 \pm 21,14	76,77 \pm 14,69	83,92 \pm 16,54	76,92 \pm 16,61	72,85 \pm 16,99
No n=17	78,00 \pm 13,00	80,59 \pm 14,00	87,00 \pm 12,34	84,53 \pm 12,34	77,47 \pm 11,06
Hipoglucemia severa					
Sí n=6	83,83 \pm 10,93	84,67 \pm 10,58	84,50 \pm 8,92	81,67 \pm 8,62	79,50 \pm 5,24
No n=24	74,96 \pm 17,63	77,50 \pm 14,79	85,96 \pm 15,30	81,13 \pm 15,88	74,46 \pm 15,21

Datos de variables continuas en $\bar{X} \pm DE$. CAD: cetoacidosis diabética * Valor de $p=0,01$ vs. ≤ 2 años.

puntajes entre las distintas categorías. Tampoco se observó asociación del control metabólico y de las demás variables clínicas de los pacientes con el CI categorizado.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados demuestran que la DM1 tiene un impacto negativo sobre el CI de los niños y adolescentes que la padecen, quienes presentan 13 puntos menos con respecto a los controles. El menor desempeño de los pacientes con DM1 fue evidente en todos los dominios del WISC IV. Efectos similares fueron obtenidos por Shehata y col.¹⁵ en Egipto en 40 niños con DM1, cuyo CI se encontraba disminuido en comparación con sujetos sin DM (83,14±19,60 frente a 95,89±11,54; $p=0,001$). Del mismo modo, Lin y col.¹⁶ en Australia evaluaron 95 pacientes con DM1 seguidos en promedio por 12 años y evidenciaron que el CI de los casos con DM1 era significativamente menor al de los controles (100,94±12,87 frente a 105,18±12,87; $p=0,4$). Así mismo, el metanálisis de He y col.⁸ del 2018 demostró que los niños que sufren DM1 tienen peores resultados en cognición que los controles ($g=-0,46$; $p<0,01$; IC95%: -0,30 a -0,06). En nuestro trabajo se encontró que los niños con DM1 tienen un riesgo (*odds ratio*) 3 veces mayor de presentar un CI bajo (menor del pe 10) que aquellos sin DM1.

Varios mecanismos han sido propuestos para explicar el deterioro cognitivo en personas con DM, tales como: hipo e hiperglucemia, CAD, déficit de insulina, activación de vías inflamatorias, producción de especies reactivas de oxígeno y complicaciones microvasculares^{3,17}. La mayoría de estos mecanismos están interrelacionados y podrían influenciar las habilidades cognitivas a través de diferentes vías fisiopatológicas que conducirían a disminución del flujo sanguíneo cerebral, disfunción de la barrera hematoencefálica, alteración del metabolismo energético cerebral, del metabolismo de los neurotransmisores y de la actividad sináptica, defectos estructura-

les como disminución del volumen cerebral y daño axonal y de la mielina¹⁸.

Los hallazgos de esta investigación contrastan con los resultados de López y col.¹⁹ en España que en 42 niños y adolescentes con DM1 con un muy buen control metabólico consiguieron un CI similar al del grupo control (110,74±13,80 frente a 110,84±20,72) tras aplicar el test WISC-R y otras baterías neurocognitivas, y sólo obtuvieron diferencias significativas en el subtest construcción con cubos. También son diferentes a los de Ly y col.²⁰ que en su grupo de 33 adolescentes y adultos jóvenes australianos con DM1 no encontraron diferencias significativas en su CI (100,7±2,0 frente a 102,5±1,4). Cabe destacar que en estos estudios los pacientes con DM1 se encontraban en buen control metabólico. Al respecto, en nuestro trabajo se pudo demostrar una correlación lineal negativa entre la glucemia pre-test y el CI, y en el subtest serie de números y letras el grupo con DM1 en mal control metabólico tuvo valores significativamente menores que el grupo control. El estudio de Stanislawska-Kubiak y col.²¹ en 68 individuos con DM1 de 6-17 años a quienes aplicaron el WISC-R, puso en evidencia que los sujetos con HbA1c mayor a 8,6% tenían peores resultados en esa prueba neurocognitiva que aquellos con una HbA1c menor a 7,5% (CI: 110,27±11,09 frente a 116,06±11,64 respectivamente; $p=0,003$). Se podría argumentar con estos resultados que el control metabólico de niños y adolescentes con DM1 podría afectar su desempeño cognitivo.

En relación al rendimiento académico, se encontraron calificaciones más bajas en el grupo de pacientes con DM1; similares resultados fueron documentados por Dahlquist y col.²² en Suecia, quienes encontraron que el promedio de puntajes escolares de 5.159 adolescentes con DM1 era de 3,15±0,01 y el de los controles de 3,23±0,04 ($p<0,001$ en una escala de 1 a 5). También coincidió con los hallazgos de Román y col.²³ en Chile, quienes al evaluar 66 niños con DM1 encon-

traron calificaciones inferiores a las de niños no diabéticos ($5,6 \pm 0,7$ frente a $6,0 \pm 0,2$; $p=0,0002$ en una escala de calificaciones del 1 al 7). Por otra parte, nuestros resultados divergen de la experiencia de Cooper y col.²⁴ en Australia, quienes en 426 niños con DM1 con un promedio de HbA1c de 8,3% encontraron que esta condición no estuvo asociada a una disminución en el desempeño escolar después de evaluar habilidades numéricas, lectura, escritura y gramática, utilizando el programa nacional de evaluación NAPLAN. Igualmente, Skipper y col.²⁵ en Dinamarca, a través de test escolares de aplicación nacional que evalúan las habilidades en lectura y matemáticas, no encontraron diferencias significativas entre niños con DM1 y los controles no diabéticos.

La edad al momento del diagnóstico no parece tener efecto en los puntajes en el WISC IV obtenidos por nuestros pacientes con DM1, así como tampoco en el estudio de Shehata y col.¹⁵. Del mismo modo Semenkovich y col.⁹ al aplicar el WJIII General Information Test y el Spatial Relations Test en 61 niños y jóvenes con DM1, concluyeron que la edad de inicio de la diabetes no fue asociada con resultados del CI ni con habilidades académicas, y más recientemente Kirchoff y col.²⁶ al evaluar 61 niños y adolescentes con DM1 demostraron que la edad de inicio de la enfermedad no tuvo ningún efecto significativo en el desempeño cognitivo medido por los test Woodcock-Johnson y Children's Memory Scale.

Nuestros pacientes con más de 2 años de evolución de la enfermedad obtuvieron puntajes significativamente más bajos sólo en el dominio memoria operante; es probable que la alteración en la memoria a corto plazo sea el marcador más sensible y de pronta aparición en nuestro grupo. Es de destacar que, aunque el planteamiento de que a mayor duración de la diabetes hay más exposición al daño en el tejido cerebral, no todos los estudios en niños han podido demostrar el efecto deletéreo de la duración de la diabetes sobre la cognición. Así, en el estudio de Marcos y

col.²⁷ en 30 pacientes argentinos con DM1 menores de 18 años de edad, no se encontró diferencia significativa en el CI, ni en los dominios del WISC IV en función del tiempo de evolución de la enfermedad. Son necesarios estudios prospectivos con un mayor número de sujetos para determinar si los efectos de las variables clínicas de la diabetes sobre la cognición se hacen evidentes con el transcurrir del tiempo.

Al considerar el efecto del tipo de debut (con o sin CAD) sobre el desempeño cognitivo, no se detectó efecto alguno, tal y como fue reportado por el estudio de Semenkovich y col.²⁸ en 66 niños y adolescentes con DM1, al aplicar el WJIII. Por el contrario, Aye y col.²⁹ evaluaron a 144 niños con DM1, menores de 10 años de edad, con el test de inteligencia Wechsler para preescolar y primaria y encontraron que el grupo que había debutado en CAD tenía un CI 6 puntos por debajo ($p=0,03$).

No se encontró ningún resultado significativo al evaluar el efecto de episodios de hipoglucemia severa sobre el CI, ni sobre los distintos dominios del WISC IV en concordancia con los hallazgos de otras investigaciones^{11,17}. Se debe señalar que sólo 6 sujetos en nuestro grupo habían reportado esta complicación aguda, por lo que es posible que no se haya podido detectar alguna asociación debido a la escasa ocurrencia de la misma. Recientemente, Rama y col.³⁰ concluyeron que el efecto de la hipoglucemia severa en la función cognitiva de los pacientes con DM1 depende de la edad, demostrando un moderado efecto deletéreo sólo en menores de 10 años y en los mayores de 55.

Este es el único trabajo de éste tipo llevado a cabo en nuestro país hasta la fecha y basado en nuestra revisión bibliográfica, el tercero en Latinoamérica^{23,27}. Entre sus fortalezas se encuentra el hecho de incluir un grupo control, pareado por edad, sexo, condición socioeconómica y estado nutricional. Entre las limitaciones, se reconoce la ausencia de resultados de HbA1c en la totalidad de los pacientes, la limitada exposición de los

sujetos con DM1 a hipoglucemias severas, al igual que el número relativamente pequeño de participantes y la corta evolución promedio de la enfermedad.

En conclusión, este estudio demostró que la DM1 afecta significativamente y de forma negativa la función cognitiva de niños y adolescentes. Los resultados sobre el CI y los dominios del test WISC IV deben ser interpretados como un signo temprano de disfunción cognitiva, con posibles repercusiones en la vida diaria de estos individuos que requieren estricto auto-monitoreo de sus glucemias, seguimiento de pautas nutricionales y de esquemas de tratamiento algunas veces complejos. Al igual que en la detección de complicaciones microvasculares como retinopatía, nefropatía y neuropatía periférica, debe hacerse énfasis en el diagnóstico precoz de alteraciones en la función cognitiva de estos pacientes. Para ello se deben incorporar pruebas sencillas, económicas y no invasivas, como los test neurocognitivos, en el cuidado rutinario de niños y adolescentes que viven con DM1, e incluir acompañamiento psicopedagógico como una medida para intentar superar las deficiencias encontradas.

Financiamiento

El trabajo fue financiado por los propios autores, no se solicitó financiamiento externo.

Conflicto de interés

Ninguno de los autores presenta algún conflicto de interés.

Número ORCID de los autores

- Yusmary El Kantar (YEK):
0000-0001-6853-3688
- Samy Durán (SD):
0000-0001-5025-6969
- Roberto Lanes (RL):
0000-0001-6365-5176
- Mariela Paoli (MP):
0000-0003-2034-3337

Participación de los autores

- YEK: tuvo la idea, desarrolló el protocolo, participó en la selección de los pacientes, colaboró en el análisis estadístico, redactó todo el documento. Este fue su trabajo especial de grado para obtener el título de Especialización en Endocrinología.
- SD: aplicó los tests psicológicos a todos los niños y adolescentes, hizo recomendaciones en la redacción de los resultados y revisó todo el artículo
- RL: revisó e hizo sugerencias de interés y pertinentes al artículo
- MP: revisó y corrigió desde el protocolo hasta el artículo final y realizó todos los análisis estadísticos aplicados. Fue tutora del trabajo especial de grado.

REFERENCIAS

1. Maahs DM, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39:481-497.
2. Kodl C, Seaquist E. Cognitive dysfunction and diabetes mellitus. *Endocr Rev* 2008; 29:494-511.
3. Hamed S. Brain injury with diabetes mellitus: evidence, mechanisms and treatment implications. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2017;10:409-428.
4. Saedi E, Gheini MR, Faiz F, Arami MA. Diabetes mellitus and cognitive impairments. *World J Diabetes* 2016;7:412-422.
5. Biessels GJ, Despa F. Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Endocrinol* 2018;14:591-604.
6. Wechsler D. Manual Técnico del WISC- IV. México: El Manual Moderno; 2007:1-19.
7. Shalimova A, Graff B, Gasecki D, Wolf J, Sabisz A, Szurowska E, Jodzio K, Narkiewicz K. Cognitive dysfunction in type 1 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104:2239-2249.

8. He J, Ryder AG, Li S, Liu W, Zhu X. Glycemic extremes are related to cognitive dysfunction in children with type 1 diabetes: A meta-analysis. *J Diabetes Investig* 2018;9:1342-1353.
9. Semenkovich K, Patel PP, Pallock AB, Beach KA, Nelson S, Masterson JJ, Hershey T, Arbeláez AM. Academic abilities and glycaemic control in children and young people with type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2016;33:668-673.
10. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2014;37(supplement 1):s81-s90.
11. Méndez -Castellano H, Méndez MC. Estratificación social y biología humana. *Arch Venez Puer Ped* 1986;49:93-104.
12. Wolfsdorf J, Craig ME, Daneman D, Dunger D, Edge J, Warren WR, Rosenbloom A, Sperling MA, Hanas R. Diabetic ketoacidosis in children and adolescents with diabetes. *Pediatr Diabetes* 2009;10:s118-133.
13. Seaquist ER, Anderson J, Childs B, Cryer P, Dagogo-jack S, Fish L, Heller SR, Rodríguez H, Rosenzweig J, Vigersky R. Hypoglycemia and diabetes: a report of a workgroup of the ADA and the Endocrine Society. *Diabetes Care* 2013;36:1384-1395.
14. American Diabetes Association. Children and adolescents. *Diabetes Care* 2017;40:s105-s113.
15. Shehata G, Eltayeb A. Cognitive function and event-related potentials in children with type 1 diabetes mellitus. *J Child Neurology* 2010;25:469-474.
16. Lin A, Northam EA, Werther GA, Cameron FJ. Risk factors for decline in IQ in youth with type 1 diabetes over the 12 years from diagnosis/illness onset. *Diabetes Care* 2015;38:236-242.
17. Chen R, Shi J, Yin Q, Li X, Sheng Y, Han J, Zhuang P, Zhang Y. Morphological and pathological characteristics of brain in diabetic encephalopathy. *J Alzheimers Dis* 2018;65:15-28.
18. Feinkohl I, Prince JF, Strachan MW, Frier BM. The impact of diabetes on cognitive decline: potential vascular, metabolic, and psychosocial risk factors. *Alzheimers Res Ther* 2015;7:46 doi:10.1186/s131.95-015-0130-5.
19. López ML, Portellano JA, Martínez R. Evaluación neuropsicológica de la diabetes mellitus tipo 1 en la infancia. *Av. Diabetol* 2010;26:353-357.
20. Ly TT, Anderson M, McNamara KA, Davis EA, Jones TW. Neurocognitive outcomes in young adults with early onset type 1 diabetes: a prospective follow-up study. *Diabetes Care* 2011;34:2192-2197.
21. Stanislawska-Kubiak M, Mojs E, Wojciak RW, Piasecki B, Matecka M, Sokalski J, Kopczyński P, Fichna P. An analysis of cognitive functioning of children and youth with type 1 diabetes (T1DM) in the context of glycaemic control. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018;22:3453-3460.
22. Dahlquist G, Källén B. School performance in children with type 1 diabetes: a population -based register study. *Diabetologia* 2007;50:957-964.
23. Román R, Garrido V, Novoa V, Munda-ca G, Pichuante E, Rivera A, Torres A, Fuentes M, Fuentes A, Linares J. Control metabólico y rendimiento escolar en niños con diabetes tipo 1. *Rev Chil Pediatr* 2017;88(5):586-594.
24. Cooper MN, McNamara KA, de Klerk NH, Davis EA, Jones TW. School performance in children with type 1 diabetes: a contemporary population-based study. *Pediatr Diabetes* 2016;17:101-111.
25. Skipper N, Gaulke A, Sildorf SM, Eriksen TM, Nielsen NF, Svensson J. Association of type 1 diabetes with standardized test scores of Danish schoolchildren. *JAMA* 2019;321(5):484-492.
26. Kirchoff BA, Jundt DK, Doty T, Hershey T. A longitudinal investigation of cognitive function in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2017;18:443-449.
27. Marcos R, Papendiek L, Bin L, Rodríguez E, Krochik AG. Impacto de la diabetes tipo 1 en el desarrollo neurocognitivo de niños entre 5 y 18 años. *Medicina Infantil* 2015;22:201-209.
28. Semenkovich K, Bischoff A, Doty T, Nelson S, Siller AF, Hershey T, Arbeláez AM. Clinical presentation and memory function in youth with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 2016;17:492-499.

-
29. **Aye T, Mazaika PK, Mauras N, Marzelli MJ, Shen K, Hershey T, Cato A, Weinzierl S, White NH, Tsalikian E, Jo B, Reiss A.** Impact of early diabetic ketoacidosis on the developing brain. *Diabetes Care* 2019;42:443-449.
30. **Rama Chandran S, Jacob P, Choudhary P.** A systematic review of the effect of prior hypoglycaemia on cognitive function in type 1 diabetes. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2020;11:1-18.

Effects of somatostatin in combination with early hemoperfusion on inflammatory, hemorheological and oxidative parameters during the treatment of acute pancreatitis.

Hengyong Zhai, Bin Yang, Yiwei Fu, Dongli Zhang, Yujiang Li and Junxing Huang

Department of Gastroenterology, Taizhou People's Hospital, China.

Keywords: somatostatin; hemoperfusion; acute pancreatitis; inflammatory response; stress response.

Abstract. We aimed to evaluate the effects of somatostatin combined with early hemoperfusion on inflammatory and stress responses during acute pancreatitis (AP) treatment. A total of 159 AP patients treated from September 2016 to January 2020 were randomly divided into three groups A-C (n=53). In addition to routine treatment, groups A-C were additionally given somatostatin, early hemoperfusion, and somatostatin combined with early hemoperfusion, respectively. Their inflammatory factors, stress response, intestinal mucosal barrier, hemorheological indices, recovery time, length of stay, clinical efficacy, and adverse reactions were compared. The levels of serum interleukin-10 (IL-10), catalase and glutathione peroxidase rose in the three groups after ten days of treatment, compared with values before treatment, being the highest rise in group C. The levels of IL-18, tumor necrosis factor- α , soluble intercellular adhesion molecule-1, procalcitonin, high mobility group protein B1, lipid hydrogen peroxide, advanced oxidation protein products, epinephrine, cortisol, D-lactic acid, diamine oxidase, and endotoxin decreased after ten days of treatment compared with those before treatment, which were lowest in group C ($P < 0.05$). After ten days of treatment, the levels of hemorheological indices were significantly lower than those before treatment ($P < 0.05$). Compared with groups A and B, group C had a shorter recovery time of urine amylase, bowel sound and passing gas, remission time of abdominal pain, length of stay, and a higher total response rate ($P < 0.05$). During AP treatment, somatostatin combined with early hemoperfusion effectively relieved inflammatory and stress responses, protected the intestinal mucosal barrier function and improved the hemorheology, thereby promoting the recovery and benefiting the prognosis of patients.

Efectos de la somatostatina en combinación con hemoperfusión precoz sobre parámetros inflamatorios, hemorreológicos y oxidativos durante el tratamiento de la pancreatitis aguda.

Invest Clin 2023; 64 (1): 41 – 52

Palabras clave: somatostatina; hemoperfusión; pancreatitis aguda; respuesta inflamatoria; respuesta al estrés.

Resumen. Nuestro objetivo fue evaluar los efectos de la somatostatina combinada con hemoperfusión temprana sobre las respuestas inflamatorias y de estrés durante el tratamiento de la pancreatitis aguda (PA). Un total de 159 pacientes con PA tratados entre septiembre de 2016 y enero de 2020 se dividieron aleatoriamente en tres grupos A-C (n=53). Con base en el tratamiento de rutina, los grupos A-C recibieron además somatostatina, hemoperfusión temprana y somatostatina combinada con hemoperfusión temprana, respectivamente. Se compararon sus factores inflamatorios, respuesta al estrés, barrera de la mucosa intestinal, índices hemorreológicos, tiempo de recuperación, tiempo de estancia, eficacia clínica y reacciones adversas. Los niveles séricos de interleucina-10 (IL-10), catalasa y glutatión peroxidasa aumentaron en los tres grupos después de 10 días de tratamiento, comparados con los valores antes del tratamiento, siendo más elevados en el grupo C. Los niveles de IL-18, factor de necrosis tumoral α , molécula de adhesión intercelular 1 soluble, procalcitonina, proteína B1 del grupo de alta movilidad, peróxido de hidrógeno lipídico, los productos proteicos de oxidación avanzada, epinefrina, cortisol, ácido D-láctico, diaminoxidasa y endotoxina disminuyeron después de 10 días de tratamiento en comparación con los previos al tratamiento, que fueron más bajos en el grupo C ($P < 0,05$). Después de 10 días de tratamiento, los índices hemorreológicos fueron significativamente menores que los previos al tratamiento ($P < 0,05$). En comparación con los grupos A y B, el grupo C tuvo un tiempo de recuperación más corto de amilasa en orina, sonido y escape intestinal, tiempo de remisión del dolor abdominal y tiempo de estancia, y una tasa de respuesta total más alta ($P < 0,05$). Durante el tratamiento de la AP, la somatostatina combinada con hemoperfusión precoz alivia eficazmente las respuestas inflamatorias y de estrés, protege la función de la barrera de la mucosa intestinal y mejora la hemorología, favoreciendo la recuperación y beneficiando el pronóstico de los pacientes.

Received: 27-06-2022 Accepted: 30-09-2022

INTRODUCTION

Acute pancreatitis (AP) is a common acute abdominal disease typified by the acute episode of severe persistent upper abdominal pain. Due to multiple etiological factors, pancreatic enzymes in the pancreas

are activated, causing local inflammatory responses in pancreatic tissues, such as autodigestion, edema, bleeding, and necrosis. With the progression of AP, systemic inflammatory response syndrome occurs in severe cases, accompanied by organ dysfunction and even death¹. Recently, the imbalance

between inflammatory and oxidative stress responses is considered a crucial cause for the onset and exacerbation of AP. Therefore, balancing the inflammatory response and eliminating oxygen-free radicals are the key to AP treatment². Somatostatin can inhibit the secretion and biological activity of pancreatic enzymes and exert therapeutic effects by suppressing autodigestion. Blood purification treatment can protect organ function by restoring the blood's internal environment to normal³. Currently, somatostatin is often combined with early hemoperfusion in the clinical treatment of AP patients. However, the effects on inflammatory and stress responses remain largely unknown. In this study, the clinical efficacy of somatostatin combined with early hemoperfusion on AP patients was assessed, and the changes in their inflammatory and stress responses were analyzed, aiming to investigate the possible mechanism of action and to provide a scientific basis for clinical treatment.

MATERIALS AND METHODS

Baseline clinical data

This study has been approved by the ethics committee of our hospital and a written informed consent has been obtained from all patients. A total of 159 AP patients treated in our hospital from September 2016 to January 2020 were selected and divided into groups A, B, and C (n=53) using a random number table. In group A, the patients were 34-76 years old, with an average of 51.26 ± 8.93 years. There were 32 males and 21 females. The body mass index (BMI) was 22.15 ± 1.48 kg/m² on average, and the duration from onset to admission was 3-71 h, averaging 24.62 ± 5.39 h. Regarding the severity of the disease, there were 28 mild, 21 moderate-severe, and four severe cases. As to the pathogenesis, there were 15 cases of biliary pancreatitis, 22 cases of alcoholic pancreatitis, and 16 cases of overeating-induced pancreatitis. About complications,

hyperlipidemia occurred in 11 cases, diabetes mellitus in 14 cases, and hypertension in 28 cases. In group B, the patients were 33-74 years old, with an average of 50.94 ± 8.87 years. There were 29 males and 24 females. BMI was 21.89 ± 1.45 kg/m² on average, and the duration from onset to admission was 2-72 h, averaging 24.73 ± 5.41 h. In terms of the severity of the disease, there were 29 mild, 19 moderate-severe, and five severe cases. Regarding the pathogenesis, there were 14 cases of biliary pancreatitis, 21 cases of alcoholic pancreatitis and 18 cases of overeating-induced pancreatitis. As to complications, hyperlipidemia occurred in 13 cases, diabetes mellitus in 11 cases and hypertension in 29 cases. In group C, the patients were 34-75 years old, with an average of 51.32 ± 9.04 years. There were 31 males and 22 females. BMI was 22.07 ± 1.46 kg/m² on average, and the duration from onset to admission was 2-71 h, with an average of 24.58 ± 5.37 h. In terms of the severity of the disease, there were 31 mild, 17 moderate-severe, and 5 severe cases. As to the pathogenesis, there were 17 cases of biliary pancreatitis, 19 cases of alcoholic pancreatitis, and 17 cases of overeating-induced pancreatitis. Concerning complications, hyperlipidemia occurred in 14 cases, diabetes mellitus in 12 cases and hypertension in 27 cases. The three groups had comparable baseline clinical data (P>0.05) (Table 1).

Inclusion and exclusion criteria

Inclusion criteria: 1) Patients who met the diagnostic criteria in the Expert Consensus on TCM Diagnosis and Treatment of Acute Pancreatitis (2017) developed by the Society of Digestive Diseases, China Association of Traditional Chinese Medicine⁴; 2) those admitted within 72 h after onset; 3) those treated for the first time; 4) those without contraindications to hemoperfusion or history of drug allergy; 5) those admitted for over 14 d; 6) those with complete clinical data; 7) those who and whose families voluntarily signed the informed consent.

Table 1
Baseline clinical data.

	Group A (n=53)	Group B (n=53)	Group C (n=53)	Statistical value	<i>P</i>
Age (year)	51.26±8.93	50.94±8.87	51.32±9.04	F=0.282	0.892
BMI (kg/m ²)	22.15±1.48	21.89±1.45	22.07±1.46	F=0.762	0.324
Duration from onset to admission (h)	24.62±5.39	24.73±5.41	24.58±5.37	F=0.823	0.192
Severity				$\chi^2=0.723$	0.948
Mild	28	29	31		
Moderate-severe	21	19	17		
Severe	4	5	5		
Pathogenesis				$\chi^2=0.649$	0.958
Biliary pancreatitis	15	14	17		
Alcoholic pancreatitis	22	21	19		
Overeating-induced pancreatitis	16	18	17		
Complication				$\chi^2=0.818$	0.936
Hyperlipidemia	11	13	14		
Diabetes mellitus	14	11	12		
Hypertension	28	29	27		

BMI: Body mass index.

Exclusion criteria: 1) Patients complicated with dysfunction of vital organs such as the heart, liver, or kidney, acute/chronic infectious diseases, or endocrine diseases that may affect the stress state; 2) those with a history of acute/chronic pancreatitis; 3) those with diabetes mellitus, hypertension, tumors or trauma; 4) those with mental disorders or language dysfunction; 5) those who were transferred to another hospital or quit halfway, received other therapeutic regimens or had poor compliance; 6) pregnant or lactating women.

Treatment methods

All patients were deprived of water and food immediately after admission, and conventional therapies were performed, such as gastrointestinal decompression, the supplement of blood volume, anti-infection, as well as correction of water-electrolyte and acid-base disorders. For group A, somatostatin

(NMPN H20066708, Yangtze River Pharmaceutical Group, China) was applied based on conventional therapy: 6 mg of somatostatin was diluted in 500 mL of normal saline and continuously intravenously pump-infused (4 mL/L) (Sigma-Aldrich Labware, USA). For group B, early hemoperfusion was performed based on conventional therapy: The vascular access was constructed using a femoral vein single-needle double-cavity catheter and connected to a hemodialysis machine (Philips, USA). The blood was anticoagulated with low-molecular-weight heparin (Sigma-Aldrich, USA) at an initial dose of 5000 U, with 250 U additionally supplemented hourly. Hemoperfusion was conducted using a HA330 resin hemoperfusion cartridge (Zhuhai Livzon Diagnostics Inc., China) at a flow rate of 150-200 mL/min for 2 h, 3-5 times daily as needed. For group C, somatostatin in combination with early hemoperfusion was employed based on conventional

therapy, and the dosage and method were the same as those for the other two groups.

Observation indices

Before and after 10 d of treatment, 5 mL of peripheral cubital venous blood was drawn and centrifuged, and the serum was collected.

Inflammatory factors interleukin-10 (IL-10), IL-18, tumor necrosis factor- α (TNF- α), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), procalcitonin (PCT) and high mobility group protein B1 (HMGB1) in the serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), according to the instructions of corresponding kits (Abcam, USA).

Stress response indices: Oxidative indices (lipid hydrogen peroxide (LHP) and advanced oxidation protein products (AOPPs)) and antioxidative indices (catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px)) were determined using immunofluorescence assay kits (Thermo Fisher Scientific, USA). Additionally, stress hormones epinephrine (E) and cortisol (COR) were determined by radioimmunoassay kits (North Bioengineering Institute, Beijing, China).

Intestinal mucosal barrier indices D-lactic acid (D-LAC), diamine oxidase (DAO), and endotoxin (ET) in the serum were detected by ELISA kits (Abcam, USA).

Hemorheological indices: before treatment and after 10 d of treatment, the platelet adhesion rate, plasma-specific viscosity, whole blood-specific viscosity (high), and thrombus length were observed.

Urine amylase was detected by an ELISA kit (Abcam, USA), and its recovery time was recorded. The recovery time of bowel sound and exhaust, remission time of abdominal pain, together with the length of stay were also recorded.

After treatment for 10 d, clinical efficacy and adverse reactions were observed. Evaluation criteria for clinical efficacy: Cured: The laboratory test indices returned

to normal, and the clinical symptoms disappeared. Markedly effective: The laboratory test indices were improved significantly, and the clinical symptoms were significantly relieved. Effective: The laboratory test indices and clinical symptoms were improved. Ineffective: The laboratory test indices had no improvement or even worsened, and the clinical symptoms were not changed or even exacerbated. Total response rate = (cured + markedly effective + effective cases)/total cases \times 100%.

Statistical analysis

All data were statistically analyzed by the SPSS 20.0 software (IBM Inc., USA). The quantitative data were expressed as means \pm standard deviations ($\bar{x} \pm s$). Multigroup comparisons were performed by one-way analysis of variance, and those at different time points were conducted with repeated measures analysis of variance. In the case of statistical significance, intergroup comparisons at the same time point were carried out by the independent t test, and the paired t test was used for intragroup comparisons at various time points. The numerical data were represented as percentage (%) and subjected to the χ^2 test. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Levels of inflammatory factors

Before treatment, the levels of inflammatory factors IL-10, IL-18, TNF- α , sICAM-1, PCT and HMGB1 had no statistically significant differences among the three groups ($P > 0.05$). At 10 d after treatment, the level of serum IL-10 rose in the three groups compared with that of before treatment, higher in group C than that in groups A and B. In contrast the levels of other indices declined in the three groups, lower in group C than those in groups A and B, showing statistically significant differences ($P < 0.05$) (Table 2).

Table 2
Levels of inflammatory factors.

Index	Group A (n=53)	Group B (n=53)	Group C (n=53)	F	P
IL-10 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)					
Before treatment	9.87±1.02	10.11±1.06	9.98±1.03	1.018	0.236
10 days after treatment	15.18±1.46 [*]	14.97±1.52 [*]	20.36±2.19 ^{*ab}	14.325	0.0001
IL-18 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)					
Before treatment	463.27±45.81	459.13±46.07	461.49±45.87	0.564	0.637
10 days after treatment	170.32±18.49 [*]	167.91±17.85 [*]	138.46±14.52 ^{*ab}	10.318	0.0001
TNF- α ($\bar{x} \pm s$, ng/L)					
Before treatment	185.41±20.36	182.53±20.78	179.85±19.96	0.847	0.259
10 days after treatment	93.62±11.28 [*]	94.15±10.86 [*]	72.03±6.78 ^{*ab}	9.653	0.0001
sICAM-1 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)					
Before treatment	24.95±2.61	25.13±2.68	24.87±2.59	0.501	0.612
10 days after treatment	13.27±1.45 [*]	12.96±1.37 [*]	5.13±0.64 ^{*ab}	34.698	0.0001
PCT ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)					
Before treatment	6.48±0.73	6.52±0.69	6.47±0.71	0.359	0.704
10 days after treatment	3.79±0.42 [*]	3.85±0.40 [*]	1.68±0.23 ^{*ab}	28.076	0.0001
HMGB1 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)					
Before treatment	15.24±1.67	15.18±1.63	14.97±1.58	0.755	0.391
10 days after treatment	10.18±1.13 [*]	9.97±1.08 [*]	5.26±0.61 ^{*ab}	28.634	0.0001

Compared with before treatment, ^{*}P<0.05; compared with group A, ^aP<0.05; compared with group B, ^bP<0.05. HMGB1: High mobility group protein B1; IL: interleukin; PCT: procalcitonin; sICAM-1: soluble intercellular adhesion molecule-1; TNF- α : tumor necrosis factor- α .

Levels of stress response indices

No statistically significant differences were found in the levels of stress response indices LHP, AOPPs, CAT, GSH-Px, E, and COR among the three groups before treatment ($P>0.05$). At 10 d after treatment, the levels of serum CAT and GSH-Px rose in the three groups compared with those before treatment, higher in group C than those in groups A and B, whereas the levels of LHP, AOPPs, E, and COR declined in the three groups, lower in group C than those in groups A and B, displaying statistically significant differences ($P<0.05$) (Table 3).

Levels of intestinal mucosal barrier indices

Before treatment, there were no statistically significant differences in the levels of intestinal mucosal barrier indices D-lac, DAO and ET among the three groups ($P>0.05$). At 10 d after treatment, the levels of these indices declined in the three groups compared with those before treatment, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). At 10 d after treatment, group C had significantly lower levels of serum D-lac, DAO and ET than the other two groups ($P<0.05$) (Table 4).

Table 3
Levels of stress response indices.

Index	Group A (n=53)	Group B (n=53)	Group C (n=53)	F	P
LHP ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)					
Before treatment	23.78 \pm 2.59	24.05 \pm 2.63	23.91 \pm 2.60	0.523	0.495
10 days after treatment	14.26 \pm 1.47*	13.98 \pm 1.42*	7.52 \pm 0.83* ^{ab}	26.491	0.0001
AOPPs ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)					
Before treatment	8.41 \pm 0.92	8.37 \pm 0.89	8.45 \pm 0.93	0.472	0.651
10 days after treatment	5.39 \pm 0.56*	5.44 \pm 0.57*	2.96 \pm 0.31* ^{ab}	27.628	0.0001
CAT ($\bar{x} \pm s$, U/L)					
Before treatment	17.04 \pm 2.12	16.88 \pm 2.09	16.96 \pm 2.11	0.381	0.696
10 days after treatment	25.63 \pm 2.87*	24.75 \pm 2.83*	33.18 \pm 3.76* ^{ab}	10.612	0.0001
GSH-Px ($\bar{x} \pm s$, g/L)					
Before treatment	27.16 \pm 2.95	26.97 \pm 2.89	27.14 \pm 2.93	0.435	0.758
10 days after treatment	36.52 \pm 3.78*	35.68 \pm 3.71*	49.36 \pm 5.07* ^{ab}	13.786	0.0001
E ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)					
Before treatment	0.72 \pm 0.11	0.69 \pm 0.10	0.70 \pm 0.09	1.369	0.147
10 days after treatment	0.45 \pm 0.06*	0.43 \pm 0.05*	0.18 \pm 0.02* ^{ab}	24.757	0.0001
COR ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)					
Before treatment	251.16 \pm 27.38	249.57 \pm 26.81	250.43 \pm 27.19	0.602	0.763
10 days after treatment	142.09 \pm 15.26*	138.64 \pm 14.92*	87.58 \pm 9.61* ^{ab}	20.941	0.0001

Compared with before treatment, *P<0.05; compared with group A, ^aP<0.05; compared with group B, ^bP<0.05. AOPPs: Advanced oxidation protein products; CAT: catalase; COR: cortisol; E: epinephrine; GSH-Px: glutathione peroxidase; LHP: lipid hydrogen peroxide.

Table 4
Levels of intestinal mucosal barrier indices.

Index	Group A (n=53)	Group B (n=53)	Group C (n=53)	F	P
D-lac ($\bar{x} \pm s$, mg/L)					
Before treatment	3.96 \pm 0.58	4.12 \pm 0.63	4.07 \pm 0.62	1.265	0.173
10 days after treatment	1.97 \pm 0.29*	2.05 \pm 0.31*	1.15 \pm 0.18* ^{ab}	14.356	0.0001
DAO ($\bar{x} \pm s$, IU/mL)					
Before treatment	16.42 \pm 1.75	15.96 \pm 1.72	16.28 \pm 1.73	0.956	0.147
10 days after treatment	9.38 \pm 0.96*	9.24 \pm 0.93*	5.04 \pm 0.51* ^{ab}	28.927	0.0001
ET ($\bar{x} \pm s$, EU/mL)					
Before treatment	10.13 \pm 1.24	9.98 \pm 1.07	10.02 \pm 1.16	0.548	0.506
10 days after treatment	6.87 \pm 0.65*	6.75 \pm 0.62*	3.29 \pm 0.38* ^{ab}	36.439	0.0001

Compared with before treatment, *P<0.05; compared with group A, ^aP<0.05; compared with group B, ^bP<0.05. DAO: Diamine oxidase; D-LAC: D-lactic acid; ET: endotoxin.

Levels of hemorheology indices

Before treatment, there were no statistically significant differences in the platelet adhesion rate, plasma-specific viscosity, whole blood-specific viscosity (high), and thrombus length among the three groups ($P>0.05$). At 10 d after treatment, the hemorheology indices significantly declined in the three groups compared with those before treatment ($P<0.05$). They declined successively in group A, B and C, and the differences were statistically significant between any two groups ($P<0.05$) (Table 5).

Recovery time and hospital stay length

In group C, the recovery time of urine amylase, bowel sound and exhaust, remission time of abdominal pain, and length of stay were all significantly shorter than those of groups A and B ($P<0.05$). However, there were no significant differences between groups A and B (Table 6).

Clinical treatment outcomes and adverse reactions

The total clinical response rate was significantly higher in group C than that in

Table 5
Levels of hemorheology indices.

Index	Group A (n=53)	Group B (n=53)	Group C (n=53)	F	P
Platelet adhesion rate ($\bar{x} \pm s$, %)					
Before treatment	79.58±13.42	80.37±14.15	79.94±13.86	0.285	0.649
10 days after treatment	52.91±8.27*	43.21±6.86 ^{*a}	31.28±5.73 ^{*ab}	7.592	0.0001
Plasma specific viscosity ($\bar{x} \pm s$, %)					
Before treatment	2.24±0.25	2.19±0.23	2.21±0.24	1.063	0.186
10 days after treatment	1.89±0.18*	1.54±0.16 ^{*a}	1.17±0.12 ^{*ab}	15.478	0.0001
Whole blood specific viscosity (high) ($\bar{x} \pm s$, mPa·s)					
Before treatment	6.52±0.73	6.49±0.71	6.50±0.72	0.314	0.821
10 days after treatment	5.14±0.62*	4.08±0.53 ^{*a}	3.21±0.34 ^{*ab}	16.871	0.0001
Thrombus length ($\bar{x} \pm s$, mm)					
Before treatment	56.87±17.24	55.97±17.16	56.48±17.22	0.249	0.788
10 days after treatment	43.29±11.56*	31.28±8.45 ^{*a}	20.31±4.69 ^{*ab}	9.510	0.0001

Compared with before treatment, * $P<0.05$; compared with group A, ^a $P<0.05$; compared with group B, ^b $P<0.05$.

Table 6
Recovery time and hospital stay length.

Item	Group A (n=53)	Group B (n=53)	Group C (n=53)	F	P
Recovery time of urine amylase ($\bar{x} \pm s$, d)	7.49±0.89	7.26±0.85	5.73±0.64 ^{ab}	10.688	0.0001
Recovery time of bowel sound ($\bar{x} \pm s$, d)	5.76±0.73	5.83±0.79	2.45±0.31 ^{ab}	23.975	0.0001
Recovery time of exhaust ($\bar{x} \pm s$, d)	6.04±0.81	6.07±0.82	2.69±0.42 ^{ab}	18.709	0.0001
Remission time of abdominal pain ($\bar{x} \pm s$, d)	3.58±0.45	3.65±0.46	1.87±0.29 ^{ab}	21.427	0.0001
Hospital stay length ($\pm s$, d)	18.61±2.29	18.78±2.34	15.24±1.76 ^{ab}	6.834	0.0001

Compared with group A, ^a $P<0.05$; compared with group B, ^b $P<0.05$.

groups A and B, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). No statistically significant difference was found in the incidence rate of adverse reactions among the three groups ($P > 0.05$) (Table 7).

DISCUSSION

In recent years, the theories of pancreatic autodigestion, pancreatic microcirculation disorder, the excessive response of inflammatory mediators and intestinal bacterial translocation have been recognized as the pathogenesis of AP⁵. Therefore, patients with AP are often treated by relieving the pancreatic autodigestion and inflammatory response, and improving the pancreatic microcirculation and intestinal flora balance. As a peptide hormone containing 14 amino acids, somatostatin has been confirmed to possess a potent inhibitory effect on the secretion of gastric acid and pepsin. It can also inhibit pancreatic autodigestion *via* various ways, the most direct of which is to inhibit pancreatic secretion by reducing the content of pancreatic enzyme, thereby weakening its digestive function. Moreover, the Oddi's sphincter preventing the discharge of pancreatic juice out of the body, is also relaxed, thus promoting the discharge of pan-

creatic juice⁶. Toxic substances in human blood, including endogenous and exogenous poisons and their metabolites, are adsorbed by hemoperfusion through a large number of active adsorbents in a circulation perfusion device placed outside the body, so that the toxic substances are effectively discharged out of the body, and not ingested by organs, thus purifying the blood⁷.

Massive secretion of pancreatic enzymes leads to autodigestion of the pancreas and its surrounding tissues and organs, during which a large number of inflammatory mediators are quickly released in local lesions and penetrate the bloodstream, thereby inducing a strong systemic inflammatory response⁸. Then the inflammatory response worsens the damage to the pancreas and its surrounding tissues. TNF- α released by monocyte-macrophages upon the stimulation of various factors is considered the primary mediator inducing the inflammatory response. During pancreatic injury, TNF- α promotes the release of a variety of inflammatory mediators through activating multiple cells, thus leading to chain reactions⁹. The pro-inflammatory cytokine IL-18 produced by the activation of monocytes and macrophages can bind to the receptor to induce the expressions of various ILs and

Table 7
Clinical treatment outcomes and adverse reactions.

Item	Group A (n=53)	Group B (n=53)	Group C (n=53)	χ^2	<i>P</i>
Total response rate (%)	67.92	60.38	90.57 ^{ab}	15.799	0.015
Cured (case)	6	5	11		
Markedly effective (case)	12	10	19		
Effective (case)	18	17	18		
Ineffective (case)	17	21	5		
Incidence rate of adverse reactions (%)	7.55	9.43	5.66	0.541	0.763
Acute respiratory distress syndrome (case)	2	3	2		
Upper gastrointestinal bleeding (case)	1	0	1		
Shock (case)	1	2	0		

Compared with group A, ^a $P < 0.05$; compared with group B, ^b $P < 0.05$.

chemokines, ultimately inducing the inflammatory cascade¹⁰ As an anti-inflammatory, cytokine IL-10 is able to inhibit the proliferation and differentiation of immune cells, thereby hindering the progress of inflammatory responses¹¹ The inflammatory factor sICAM-1 with the function of immunoglobulin can act on leukocytes to promote their adhesion, aggregation and penetration through endothelial cells, so that they can reach the site of inflammation, thereby enhancing the inflammatory response¹² When trauma or infection becomes worse, large amounts of PCT will be released into the blood, and its level is positively correlated with the severity of disease¹³. The late inflammatory mediator HMGB1 can enhance the inflammatory response through various pathways, ultimately amplifying the inflammation¹⁴. In this study, somatostatin and early hemoperfusion could effectively suppress the secretion and release of pro-inflammatory factors in patients with AP, and promote the release of anti-inflammatory factors, thereby inhibiting the inflammatory response. Moreover, somatostatin combined with early hemoperfusion had a more significant effect, indicating that there is a synergistic effect between somatostatin and hemoperfusion, which effectively lowers the severity of AP in patients, consistent with the results of multiple previous reports¹⁵.

Stress response is involved in the occurrence and development of AP. Pancreatic autodigestion-induced damage of the pancreas and its surrounding tissues and systemic inflammatory response can trigger the body's stress state. During this process, the body's oxidation/antioxidation imbalance and massive release of oxygen free radicals directly cause vascular endothelial injury and vascular hyperconstriction, thus leading to ischemia and even irreversible necrosis of tissues and organs. In addition, the secretion of various stress hormones will be enhanced due to the up-regulated activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis¹⁶. Therefore, the content of oxidative factors

LHP and AOPPs, antioxidant factors CAT and GSH-Px, and stress hormones E and COR can objectively reflect the stress state and the severity of the disease in patients. In this study, the results revealed that somatostatin and hemoperfusion could balance the oxidation/antioxidation state and regulate the neuro-endocrine function in patients with AP through up-regulating antioxidant factors and down-regulating oxidative factors and stress hormones, so that the patient's systemic stress was alleviated. Besides, the synergistic effect of somatostatin and hemoperfusion was more significant. When the intestinal mucosa epithelium and its barrier function are damaged, the intestinal bacterial ferment D-lac and the highly-active endonuclease DAO can enter the blood circulation. At the early stage of intestinal barrier dysfunction, ET can translocate, leading to intestinal endotoxemia and the release of inflammatory factors, and worsening the systemic inflammatory response in patients. In this study, somatostatin and hemoperfusion could reduce the levels of serum D-lac, DAO and ET in patients, indicating that both treatment methods have a protective effect on the intestinal mucosal barrier function in patients with AP. Additionally, the combination of them has a better protection effect.

The results are consistent with previous literature reports¹⁷, i.e. somatostatin can reduce the endotoxin level through activating the liver reticuloendothelial system and enhancing its phagocytosis, thereby improving the endotoxemia symptoms. In addition, such an effect is related to the ability of hemoperfusion to scavenge endogenous and exogenous poisons and their metabolites¹⁸. In this study, it was found that somatostatin and hemoperfusion could improve the hemorheological indices of patients with AP to different degrees. It is speculated that the reason is closely related to the ability of somatostatin to effectively weaken the release of platelet-activating factors and reduce vascular permeability, and the ability of hemoperfusion to purify the blood. Besides, in the

group C, the recovery time of urine amylase, bowel sound and exhaust, remission time of abdominal pain and length of stay were all shorter than those in groups A and B, and the total clinical response rate was higher than that in groups A and B. It can be seen that somatostatin combined with hemoperfusion is more conducive to the recovery of patients and can improve clinical efficacy.

In conclusion, somatostatin combined with early hemoperfusion can effectively reduce the inflammatory and stress responses, protect the intestinal mucosal barrier function, and improve the hemorheology in the treatment of AP, thereby promoting recovery and benefitting the prognosis of patients. Such therapy has essential practical application value in clinical practice, which is worthy of popularization in the future.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank all coauthors for their significant contributions.

Conflict of interest

None to declare

Funding/Support

This study was not financially supported.

ORCID numbers of authors

- Hengyong Zhai (HZ):
0000-0002-0015-9340
- Bin Yang (BY):
0000-0002-7647-9973
- Yiwei Fu (YF):
0000-0003-2799-5450
- Dongli Zhang (DZ):
0000-0003-3031-2526
- Yujiang Li (YL):
0000-0001-9844-7043
- Junxing Huang (JH):
0000-0001-7199-4717

Authors' contributions

HZ and JH designed this study and significantly revised this paper; BY, YF, DZ and YL performed this study, analyzed clinical data and drafted this paper. All authors have approved the submission and publication of this paper.

REFERENCES

1. Zhang K, Li C, Gao C, Zhao C, Tang Q, Zhai J, Li Y. Efficacy and safety of acupuncture as an adjuvant treatment for acute pancreatitis: a protocol of systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2019; 9(7): e029327. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-029327>.
2. Santana DG, Oliveira AS, Souza MTS, Santos JTDC, Hassimotto NMA, Silva AMOE, Grespan R, Camargo EA. Vaccinium macrocarpon Aiton extract ameliorates inflammation and hyperalgesia through oxidative stress inhibition in experimental acute pancreatitis. *Evid Based Complement Alternat Med* 2018; 2018: 9646937. <https://doi.org/10.1155/2018/9646937>.
3. Li Z, Wang G, Zhen G, Zhang Y, Liu J, Liu S. Effects of hemodialysis combined with hemoperfusion on severe acute pancreatitis. *Turk J Gastroenterol* 2018; 29(2): 198. <https://doi.org/10.5152/tjg.2018.17415>.
4. Li J, Chen J, Tang W. The consensus of integrative diagnosis and treatment of acute pancreatitis-2017. *J Evid Based Med* 2019; 12(1): 76-88. <https://doi.org/10.1111/jebm.12342>.
5. Hu J, Lin W, Zhao C, Chen J. The Relationship between trypsin/calitonin gene related peptide (CGRP) in serum and acute pancreatitis (AP). *Clin Lab* 2018; 64(1): 93-97. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2017.170627>.
6. van Esdonk MJ, Stevens J, Stuurman FE, de Boon WMI, Dehez M, van der Graaf PH, Burggraaf J. The pharmacodynamic effects of a dopamine-somatostatin chimera agonist on the cardiovascular system. *J Cardiovasc Pharmacol* 2019; 74(2): 128-136. <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000695>.
7. Wang W, Li J, Zhu B. Curative effect of paraquat detoxification recipe combined

- with continuous hemoperfusion in the treatment of patients with APP and clinical value of Presepsin. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2017; 29(11): 967-972. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.11.002>.
8. Liu XD. Xuebijing injection for treatment of severe acute pancreatitis: Curative effect and influence on inflammatory factors. *World Chin J Digestol* 2017; 25: 929. <https://doi.org/10.11569/wcj.d.v25.i10.929>.
 9. Novovic S, Borch A, Werge M, Karran D, Gluud L, Schmidt PN, Hansen EF, Nøjgaard C, Jensen AB, Jensen FK, Frøkjær JB, Hansen MB, Jørgensen LN, Drewes AM, Olesen SS. Characterization of the fibroinflammatory process involved in progression from acute to chronic pancreatitis: study protocol for a multicentre, prospective cohort study. *BMJ Open* 2019; 9(8): e028999. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-028999>.
 10. Long D, Wang Y, Wang H, Wu X, Yu L. Correlation of serum and ascitic fluid soluble form urokinase plasminogen activator receptor levels with patient complications, disease severity, inflammatory markers, and prognosis in patients with severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2019; 48(3): 335-342. <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000001247>.
 11. El-Ashmawy NE, Khedr NF, El-Bahrawy HA, Hamada OB. Anti-inflammatory and antioxidant effects of captopril compared to methylprednisolone in l-arginine-induced acute pancreatitis. *Digest Dis Sci* 2018; 63(6): 1497-1505. <https://doi.org/10.1007/s10620-018-5036-1>.
 12. de Pablo R, Monserrat J, Reyes E, Díaz D, Rodríguez-Zapata M, de la Hera A, Prieto A, Álvarez-Mon M. Circulating sICAM-1 and sE-Selectin as biomarker of infection and prognosis in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Eur J Intern Med* 2013; 24(2): 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2012.10.009>.
 13. Simsek O, Kocael A, Kocael P, Orhan A, Cengiz M, Balci H, Ulualp K, Uzun H. Inflammatory mediators in the diagnosis and treatment of acute pancreatitis: pentraxin-3, procalcitonin and myeloperoxidase. *Arch Med Sci* 2018; 14(2): 288-296. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.57886>.
 14. Weng J, Wang X, Xu B, Li W. Augmenter of liver regeneration ameliorates ischemia-reperfusion injury in steatotic liver via inhibition of the TLR4/NF-κB pathway. *Exp Ther Med* 2021; 22(2): 863. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10295>.
 15. Pendharkar SA, Drury M, Walia M, Korc M, Petrov MS. Gastrin-releasing peptide and glucose metabolism following pancreatitis. *Gastroenterol Res* 2017; 10(4): 224-234. <https://doi.org/10.14740/gr890w>.
 16. Moggia E, Koti R, Belgaumkar AP, Fazio F, Pereira SP, Davidson BR, Gurusamy KS. Pharmacological interventions for acute pancreatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 4(4): CD011384. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011384.pub2>.
 17. Dong JP, Zheng Y, Wu T, He Q, Teng GG, Wang HH. Protective effect of *Saccharomyces boulardii* on intestinal mucosal barrier of dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *Chin Med J* 2019; 132(16): 1951-1958. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000364>.
 18. Wang J, Jin J, Huang J, Li DR, Hao Y, Kong JD, Chu ZY, Fu JH, Huang F. Clinical value of the early use of ulinastatin in patients with moderately severe or severe acute pancreatitis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2017; 97(16): 1252-1255. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2017.16.015>.

Estado de salud y nutrición del adulto mayor que concurre al Hospital Geriátrico del Seguro Social en la Asunción. Paraguay.

Gloria Echagüe¹, Liliana Sosa¹, Patricia Funes¹, Valentina Díaz¹, Margarita Ferrero², Osvaldo Cardoso², Marilina Florentín², Estela Orué² y Rosa Franco²

¹Universidad Nacional de Asunción- Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (UNA-IICS). San Lorenzo, Paraguay.

²Hospital Geriátrico “Prof. Dr. Gerardo Buonghermini” - Instituto de Previsión Social (IPS). Asunción, Paraguay.

Palabras clave: hipertensión; obesidad y adulto mayor; actividades básicas; riesgo social.

Resumen. El aumento de la población de adultos mayores y su mayor demanda de atención en salud en Paraguay, requiere de una evaluación multidimensional que identifique sus condiciones de riesgo o deterioro. El objetivo de esta investigación, fue evaluar el estado de salud y nutrición de una muestra de adultos mayores que acudieron a la consulta ambulatoria del Hospital Geriátrico de la Previsional, en la Asunción, Paraguay. La investigación tuvo un diseño observacional, descriptivo y de corte transversal, de 108 adultos mayores a quienes se les realizó la Valoración Geriátrica Integral (VGI) y se evaluaron parámetros nutricionales. La edad promedio fue de 71 años con predominio del sexo femenino. De acuerdo al IMC, el 64% presentó sobrepeso u obesidad. De acuerdo a la VGI, 18% presentó riesgo nutricional, 43% dependencia leve para las actividades de la vida diaria y 12% para las actividades instrumentales. El 18% mostró déficit cognitivo, el 6% depresión y el 30% riesgo social. La población se caracterizó por presentar altas frecuencias de exceso de peso e hipertensión, con una baja frecuencia de riesgo de desnutrición, las mayores limitaciones se dieron en las actividades básicas de la vida diaria y en el riesgo social. El ser mujer y el exceso de peso se asociaron significativamente con las limitaciones básicas funcionales. Este trabajo constituyó uno de los primeros en el país sobre adultos mayores ambulatorios, permitiendo configurar una línea de base de las áreas comprometidas o en riesgo de declinación y desarrollar estrategias y acciones preventivas para promover un envejecimiento saludable.

Health status of older adults attending the Geriatric Hospital of the Social Security, in Asunción, Paraguay.

Invest Clin 2023; 64 (1): 53 – 67

Keywords: hypertension; obesity and older adults; basic activities; social risk.

Abstract. The increase in the population of older adults and their more significant demand for health care in Paraguay requires a multidimensional evaluation to identify risks or deteriorating conditions. The objective of this research was to evaluate the health and nutrition status of a sample of older adults who attended the Geriatric Hospital of the Social Security for outpatient consultation. The research had a cross-sectional descriptive observational design, which included 108 older adults who underwent the Comprehensive Geriatric Assessment (CGA) and whose nutritional parameters were evaluated. Their average age was 71 years, with a predominance of females. According to their BMI, 64% were overweight or obese. As for the CGA, 18% presented a nutritional risk, 43% had mild dependence on activities of daily living and 12% on instrumental activities, 18% had a cognitive deficit, 6% had depression, and 30% had social risk. The population was characterized by a high prevalence of overweight and hypertension and a low frequency of risk of malnutrition. The most significant limitations were in the basic activities of daily life and social risk. Being female and being overweight were significantly associated with basic functional limitations. This work was one of the first in the country on ambulatory older adults, allowing the establishment of a baseline for areas where health is compromised or at risk of decline and the development of preventive strategies and actions to promote healthy aging.

Recibido: 08-09-2022 *Aceptado:* 24-10-2022

INTRODUCCIÓN

La esperanza de vida humana ha ido en aumento en forma sostenida. La población de personas mayores de 60 años se duplicará a nivel global, de acuerdo a la tendencia, para el año 2050¹. En este contexto, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) habla de una nueva situación demográfica y epidemiológica que requiere de los países, una adecuación frente al impacto de este fenómeno en la seguridad social y la salud pública². Sobre esta base y en conformidad con los objetivos del desarrollo sostenible (ODS), la Organización Mundial de la Salud

(OMS), propuso organizar la década del envejecimiento saludable 2020-2030¹.

El informe mundial de la OMS sobre envejecimiento, refiere proyectarse a un envejecimiento saludable, entendiéndolo como “el proceso de fomentar y mantener la capacidad funcional que permite el bienestar en la vejez”; para ello es menester promover y mantener esta capacidad el mayor tiempo posible, detectando y controlando a tiempo las enfermedades y sus factores de riesgo³.

En la población geriátrica, los cambios en el estilo de vida y en la alimentación, han contribuido al aumento de la prevalencia de enfermedades crónicas (obesidad, diabetes,

hipertensión arterial, cardiopatía isquémica), y por consiguiente, de la discapacidad del adulto mayor, en quien con una atención oportuna, se podría retrasar el inicio de estas patologías ⁴. Por ello, se recomienda la aplicación de instrumentos de tamizaje, como la valoración geriátrica integral (VGI), que utilizando cuestionarios estructurados con escalas simples y validadas, identifica sujetos en riesgo, síndromes geriátricos, y comorbilidades asociadas ⁵.

En la dinámica demográfica que viene experimentando el Paraguay, se observa que el ritmo de crecimiento total disminuye, con un cambio en su estructura por edades, lo que indica un claro envejecimiento de la población con el aumento de la esperanza de vida ⁶. La población de adultos mayores constituye uno de los sectores más vulnerables del país, la misma representa el 9,5% de la población total ⁷.

En el país existe una carencia de publicaciones sobre la situación de salud de los adultos mayores ambulatorios. Resultados proveídos por la Unidad de Economía Social del Ministerio de Hacienda de Paraguay, señalan que el 38% de los adultos mayores posee seguro médico, el 30% está afiliado al Instituto de Previsión Social (IPS) y el 8% a otro tipo de seguro (privado, sanidad militar o policial, seguro local) ⁸. Es sabido que “un porcentaje elevado de adultos mayores y ancianos aumentaría los gastos en seguridad social” ⁵.

El Hospital Geriátrico, del Instituto de Previsión Social (IPS), es el primer y único centro geriátrico a nivel nacional hasta el año 2021, primera escuela de formación de médicos geriatras, referente para la atención de personas de la tercera edad y el ente de la seguridad social del Estado Paraguayo. El mismo cuenta con un programa integral del adulto mayor y dentro de las prestaciones sociosanitarias, se encuentra el club de vida plena, en el cual los adultos mayores participan en encuentros, celebraciones y actividades que promocionan una vejez activa. En este contexto, ante el aumento del ín-

dice de envejecimiento y la mayor demanda de atención en salud por la población de los adultos mayores cubiertos por la seguridad social, se realizó el presente estudio, privilegiando las acciones preventivas y propiciando un envejecimiento saludable. El objetivo fue evaluar el estado de salud y nutrición de una muestra de adultos mayores, asegurados de la Previsional, que acudieron a la consulta ambulatoria del Hospital Geriátrico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño observacional descriptivo de corte transversal, realizado en adultos mayores de 60 años, de ambos sexos, asegurados de la Previsional, que reunieron los criterios de inclusión y concurren a la consulta ambulatoria al Hospital Geriátrico del IPS “Prof. Dr. Gerardo Buongermini”, en Asunción, entre los meses de octubre de 2017 y julio de 2018. Los individuos se seleccionaron por muestreo de conveniencia. Fueron invitados a participar el día que acudieron a la consulta ambulatoria. A los que aceptaron se les citó para otro día, en forma calendarizada, dos veces por semana y en ayunas.

Para estimar el tamaño de la muestra de variables continuas o dicotómicas de interés, se utilizaron las fórmulas correspondientes a estudios descriptivos ⁹, α bilateral = 0,05 para un nivel de confianza del 95%, ($Z_{\alpha} = 1,96$). El tamaño de muestra mínimo necesario para el estudio fue de 100 individuos.

Fueron excluidos los individuos en los que cursaba alguna morbilidad aguda, con demencia severa, con barreras para la comunicación, bajo tratamientos inmunosupresores, los alimentados por gastrostomía o con sonda nasogástrica.

Previo consentimiento informado, 108 individuos fueron entrevistados en forma personalizada por investigadores del equipo, en un consultorio habilitado para esta actividad, para respetar la privacidad. La aplicación de las escalas de la Valoración Geriátrica Integral (VGI) y las mediciones de

presión y antropométricas tomaron un tiempo promedio de 30 a 45 minutos.

Las variables estudiadas fueron: socio demográficas (sexo, edad, estado civil, escolaridad); valoración geriátrica integral (VGI) mediante seis escalas de valoración validadas internacionalmente: Mini Nutritional Assessment (MNA), Barthel, Lawton & Brody, Mini Examen del Estado Mental (MMSE) Modificado, Yesavage y Gijón¹⁰⁻¹⁴; antropométricas: circunferencia braquial (CB), pliegue tricipital (PT), circunferencia de pantorrilla (CP) e Índice de Masa Corporal (IMC), y pruebas de laboratorios de interés nutricional: recuento total de linfocitos, albúmina, colesterol.

La VGI se realizó en sus cuatro componentes: clínico, funcional, mental y social por investigadores previamente entrenados.

Valoración Clínica

La encuesta administrada a los adultos mayores constó de preguntas con respuestas abiertas y cerradas referentes a síndromes y problemas geriátricos, pluripatología (dos o más afecciones crónicas al mismo tiempo), polifarmacia (más de tres medicamentos), y presencia de hipertensión arterial (HTA), con la medición en dos tomas, y se definió como tensión arterial sistólica ≥ 140 o la diastólica ≥ 90 mm Hg y con un diagnóstico médico previo conocido.

La evaluación del estado nutricional se realizó según el MNA, que consta de 18 ítems con una puntuación máxima de 30 puntos, considerándose malnutrición cuando es inferior a 17 puntos, riesgo nutricional entre 17 y 23,5 puntos, y superior a los 23,5 puntos se interpreta como buen estado nutricional¹⁰; por los parámetros antropométricos: la CB y el PT fueron medidos a la altura del punto medio del brazo no dominante entre el acromion y el olecranon, la CP en el perímetro más ancho de la pierna entre el tobillo y la rodilla, para la CB y la CP con una cinta métrica flexible, y para el PT con un plicómetro marca GIMA. Para el índice de masa corporal (IMC) la talla fue medida

en centímetros mediante una cinta métrica flexible con precisión de 0,5 cm, adosada a un tallímetro portátil, y el peso en kilogramos mediante una báscula electrónica marca QF 2003A, con precisión de ± 100 gramos. Para las pruebas analíticas se realizó una extracción de sangre venosa en ayunas. La muestra fue dividida una parte en tubo con anticoagulante EDTA para recuento total de linfocitos (RTL), utilizando el contador hematológico de la marca Mindray BC 3600, y la otra parte en tubo sin anticoagulante, que fue centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos obteniéndose suero sanguíneo para determinación de albúmina y colesterol utilizando el analizador automático CB350i de Wiener Lab.

Valoración de la capacidad física funcional

Las actividades básicas de la vida diaria (ABVD) fueron medidas con el Índice de Barthel (IB): comer, lavarse, vestirse, arreglarse, deposición, micción, ir al sanitario, trasladarse del sillón a la cama, deambulación, subir y bajar escaleras. La puntuación oscila en una escala de 0 a 100, que corresponden a dependencia absoluta e independencia respectivamente, estableciéndose el grado de dependencia según la puntuación: leve, moderado, grave y total¹¹.

Las actividades instrumentales de la vida diaria (AIVD), fueron medidas con la Escala de Lawton & Brody: capacidad para usar el teléfono, hacer compras, preparación de la comida, tareas domésticas, lavado de la ropa, uso de medios de transporte, responsabilidad respecto a su medicación, capacidad de utilizar el dinero. La valoración de cada ítem fue 1 para independencia y 0 para dependencia. La máxima dependencia sería 0 puntos y la independencia total en mujeres 8 y en varones 5^{11,12}.

Valoración del estado mental

La evaluación cognitiva se realizó a través del Mini Examen del Estado Mental (MMSE) Modificado, la puntuación máxima es de 19 puntos, y 13 puntos o menos indi-

can déficit cognitivo¹³. La Evaluación Afectiva se midió utilizando la escala de depresión de Yesavage abreviada, la puntuación de 10 o más corresponde a depresión establecida, 6 a 9 probable depresión y 5 o menos normal¹³.

Valoración Social

La evaluación de riesgo social se realizó utilizando la escala de valoración socio-familiar de Gijón cuyos puntos de corte son de 10 a 14¹⁴.

Análisis estadístico: los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico Epi Info, versión 3.5.1, para determinar medias y desvíos estándar de variables continuas, y proporción e intervalos de confianza de variables cualitativas de distribución paramétrica, con un intervalo de confianza del 95%.

Para medir la asociación entre la dependencia funcional básica o instrumental con factores sociodemográficos y antropométricos, se realizaron análisis bivariados utilizando las pruebas de chi cuadrado para la significancia y *odds ratio* (OR) para la magnitud de la asociación. Se utilizó la t de Student para comparar variables cuantitativas entre los grupos dependientes e independientes de las actividades de la vida diaria (AVD). Previamente, a las variables cuantitativas se les aplicó la prueba de Bartlett para probarla homogeneidad de varianzas. El nivel de significancia estadística se estableció con una $p < 0,05$.

Aspectos éticos

El estudio fue aprobado por los Comités de ética del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (código P02/2017) y del Instituto de Previsión Social (08/2017). Los participantes fueron informados considerando los tres principios éticos de respeto, beneficencia, y justicia para la obtención del consentimiento informado. El procesamiento de los resultados se realizó por codificación para garantizar la confidencialidad. Los resultados finales fueron entregados a cada participante para evaluación y seguimiento médico en el Hospital Geriátrico.

RESULTADOS

En el estudio participaron 108 adultos mayores, con una edad media de $71,3 \pm 6,1$ años y con un rango de edad de 60 a 89 años. Las enfermedades más frecuentes fueron la hipertensión arterial 79%, las enfermedades reumáticas 56% y la diabetes mellitus 20%. En la Tabla 1 se observan las características sociodemográficas de la población, en la cual el 70% tenía una edad de 74 años o menos, con predominancia del sexo femenino del 68%, y la mayor frecuencia de escolaridad fue hasta el sexto grado de la educación escolar básica.

En la valoración antropométrica del estado nutricional, de acuerdo al IMC, se observó una prevalencia de 64% con exceso de peso (sobrepeso u obesidad), entre ellos el 48% (33/69) presentaba también un PT y una CB por encima del percentil 95. Sólo un 3% (3/108) de los adultos mayores registró peso insuficiente.

En cuanto a la valoración geriátrica integral, el 70% de los adultos mayores presentó una o más limitaciones en al menos un componente de la VGI y el 40% 2 o más limitaciones. De los cuatro componentes (Tabla 2), el funcional y el riesgo social fueron los más afectados, con el 43% y el 30%, respectivamente. En el componente clínico se observó una elevada frecuencia de polifarmacia (63%), y pluripatología (91%). De acuerdo a la valoración nutricional por el MNA, no se encontraron adultos mayores con desnutrición. Tampoco se reportaron adultos mayores con necesidad de oxígeno, inmóviles o con úlceras cutáneas.

En la Fig. 1 se observa la distribución de los tipos de limitaciones más frecuentemente encontrados según componentes de la VGI, así en el componente funcional en cuanto a las actividades básicas fueron subir y bajar escaleras e incontinencia urinaria, y en lo que respecta a las instrumentales el tipo más frecuente fue ir de compras; en el componente mental cognitivo, fue la capacidad de concentración en la atención y cálculo.

Tabla 1
Características sociodemográficas de la población de adultos mayores de consulta ambulatoria en el Hospital Geriátrico del Instituto de Previsión Social en Asunción, Paraguay.

Variables	Varones n=35 (%)	Mujeres n=73 (%)	Total n=108 (%)	Total ^d IC95%
Rango etario (años)				
60-74	21 (60)	55 (75)	76 (70)	60,8-78,8
≥ 75	14 (40)	18 (25)	32 (30)	21,2-39,2
Estado Civil				
Soltero	2 (6)	12 (16)	14 (13)	7,3-20,8
Casado	25 (71)	38 (52)	63 (58)	48,5-67,7
Viudo	6 (17)	15 (20)	21 (19)	12,5-28,2
Divorciado/Separado	1 (3)	7 (10)	8 (7)	3,3-14,1
Unión libre	1 (3)	1 (1)	2 (2)	0,2-6,5
Escolaridad				
Analfabeto	0 (0,0)	1(1)	1 (1)	0,0-5,1
EEB^a				
Primer ciclo (1° - 3°)	7 (20)	5 (7)	12 (11)	5,9-18,6
Segundo ciclo(4°-6°)	9 (26)	32 (44)	41 (38)	28,8-47,8
Tercer ciclo (7°-9°)	4 (11)	6 (8)	10 (9)	4,5-16,4
EM ^b (1° al 3° curso)	6 (17)	15 (20)	21 (19)	12,5-28,2
Técnico superior	4 (11)	4 (6)	8 (7)	3,3-14,1
Universitario	5 (14)	10 (14)	15 (14)	8,0-21,9
Recursos Económicos				
Percibe 2 veces el SM ^c	14 (40)	18 (25)	32 (30)	21,2-39,2
Menos de 2 pero más de 1 SM ^c	8 (23)	13 (18)	21(19)	12,5-28,2
1 SM	5 (14)	16 (22)	21(19)	12,5-28,2
Ingreso irregular (menos del SM ^c)	7 (20)	19 (26)	26(24)	16,4-3,3
Sin ingresos	1 (3)	7 (9)	8(8)	3,3-14,1

^aEEB: Educación Escolar Básica; ^bEM: Educación Media; ^cSM: Salario Mínimo. ^dIC95: Intervalo de confianza del 95%.

lo; en el mental afectivo el haber abandonado actividades y pasatiempos, y en el socio-familiar fue la situación económica (ingreso irregular o sin ingresos). En el colectivo de adultos mayores no se encontraron personas en situación de abandono familiar.

En la Tabla 3 se presenta la relación entre dependencia básica funcional (ABVD)

con factores sociodemográficos y antropométricos. En las ABVD se observó que el pertenecer al sexo femenino y tener exceso de peso (IMC ≥ 27), se asociaron con la dependencia a las actividades básicas. Las asociaciones con baja escolaridad y baja remuneración económica resultaron no significativas. En cuanto a la dependencia instrumental

Tabla 2
Frecuencia de los cuatro componentes de la Valoración Geriátrica Integral de la población de adultos mayores de consulta ambulatoria en el Hospital Geriátrico del Instituto de Previsión Social en Asunción, Paraguay.

Componente	Valoración	Clasificación	n	%	°IC95%
Clínico	Nutricional (MNA ^a)	Riesgo de desnutrición	19	18	10,9-26,1
		Satisfactorio	89	82	73,9-89,1
	Incontinencia urinaria Inestabilidad y caídas	Presencia de	21	19	12,5-28,2
		Presencia de	21	19	12,5-28,2
	Polifarmacia	Presencia de	68	63	53,1-72,1
	Pluripatología	Presencia de	98	91	83,6-95,5
	Sonda vesical	Presencia de	1	1	0,0-5,1
Funcional	ABVD ^b (Barthel)	Dependencia leve	46	43	33,1-52,5
		Independencia	62	57	47,5-66,9
	AIVD ^c (Lawton & Brody)	Dependencia leve	13	12	6,6-19,7
		Dependencia moderada	5	5	1,5-10,5
		Dependencia severa	1	1	0,0-5,1
		Dependencia Total	1	1	0,0-5,1
		Independencia	88	81	72,9-88,3
Mental	Cognitivo (MMSE modif ^d)	Déficit cognitivo	19	18	10,9-26,1
		Normal	89	82	73,9-89,1
	Afectivo (Yesavage)	Depresión	6	6	2,1-11,7
		Probable depresión	12	11	5,9-18,6
		Sin depresión	90	83	74,9-89,8
Social	Socio familiar (Gijón)	Deterioro social	1	1	0,0-5,1
		Riesgo social	32	30	21,2-39,2
		Adecuado	75	69	59,8-77,9

^aMNA: Mini Nutritional Assessment ^bABVD: Actividades básicas de la vida diaria; ^cAIVD: Actividades instrumentales de la vida diaria; ^dMMSE modif: Mini Examen del Estado Mental Modificado. °IC95: Intervalo de confianza del 95%.

funcional (AIVD), esta no presentó asociación significativa con factores sociodemográficos y antropométricos.

En el análisis comparativo de la Tabla 4, se observa que los valores medios de IMC fueron significativamente más elevados en el grupo de adultos mayores dependientes para las ABVD. La edad promedio fue significativamente mayor en los dependientes para las AIVD. Los valores promedios de los puntajes de los instrumentos,

utilizados para la VGI, entre los adultos mayores dependientes e independientes, no resultaron estadísticamente significativos.

De acuerdo a los marcadores bioquímicos de interés nutricional, el nivel de desnutrición observado con mayor frecuencia correspondió a leve, resultando 12% (13/108) según la albúmina, 41% (44/108) según el recuento total de linfocitos y 36% (39/108) según el colesterol total.

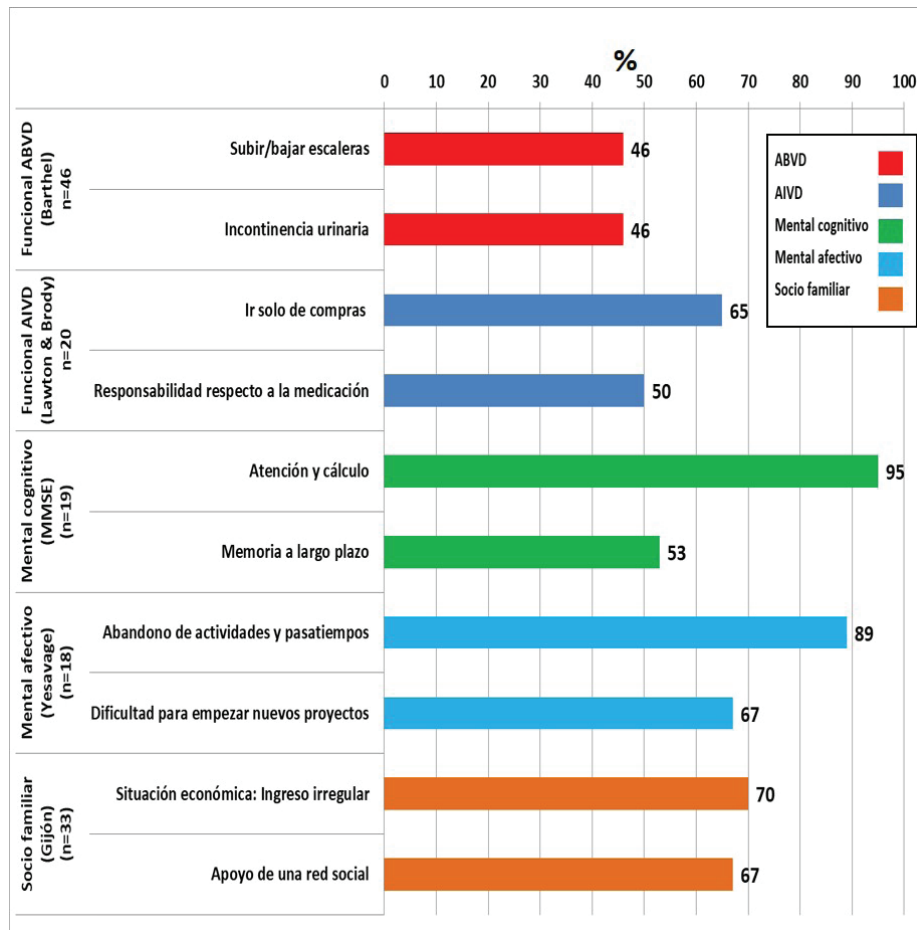


Fig. 1. Tipo de limitaciones más frecuentes según componentes de la Valoración Geriátrica Integral en adultos mayores (60 o más años) de consulta ambulatoria en el Hospital Geriátrico del Instituto de Previsión Social en Asunción, Paraguay, 2017 - 2018.

DISCUSIÓN

El aumento en el país de la población de adultos mayores requiere del conocimiento de la situación actual de su estado de salud y nutrición, cuya valoración oportuna podría marcar una diferencia sustancial en su calidad de vida, aquí radica la importancia de esta investigación.

La población estudiada se caracterizó por presentar exceso de peso e hipertensión y un bajo riesgo de desnutrición; las limitaciones más frecuentes se dieron en las actividades básicas de la vida diaria y en el riesgo social. El ser mujer y el exceso de peso, se asociaron significativamente con las limitaciones básicas funcionales.

Las características sociodemográficas de la población estudiada, así como la edad promedio y el predominio del sexo femenino, coinciden con otros trabajos^{15,16}, debido probablemente a que las mujeres tienen una mayor esperanza de vida y prestan más atención a su salud y hábitos de vida^{4,7}. Las enfermedades más prevalentes fueron la hipertensión, enfermedades reumáticas y la diabetes, coincidentemente con el Informe de la encuesta de Salud, Bienestar y Envejecimiento (SABE), realizada en las zonas de Asunción y el Departamento Central de Paraguay¹⁷, sin embargo Piñanez y col.¹⁸, en ancianos del Bañado Sur de Asunción, refieren una frecuencia de hipertensión superior, al 91%, que podría atribuirse a la

Tabla 3

Riesgo de dependencia básica funcional, asociada a factores sociodemográficos y antropométricos en adultos mayores de consulta ambulatoria en el Hospital Geriátrico del Instituto de Previsión Social en Asunción, Paraguay.

Factor de exposición	Dependencia ABVD n=46	Independencia n=62	OR (IC95%)	p*
Edad (años)				
> 75	21	30	0,89 (0,42 – 1,92)	NS
< 75	25	32		
Sexo				
Femenino	36	37	2,43 (1,02 – 5,77)	0,041
Masculino	10	25		
IMC				
> 27 (SP y O) **	35	35	2,45 (1,05 – 5,70)	0,035
< 27 (sin SP)	11	27		
Escolaridad				
≤ 6° Grado	26	28	1,57 (0,73 – 3,40)	NS
> 6° Grado	20	34		
Remuneración económica				
< al sueldo mínimo	17	17	1,55 (0,68 – 3,51)	NS
≥ al sueldo mínimo	29	45		
Estado Civil				
Sin pareja	4	5	1,08 (0,27 – 4,28)	NS
Con pareja	42	57		

ABVD: Actividades básicas de la vida diaria; OR: Odds ratio; IC95: Intervalo de confianza del 95% * p: Nivel de significancia estadística $p < 0,05$ Test de chi-cuadrado. ** SP: sobrepeso; O: obesidad.

diferencia en la metodología utilizada para la medición de la HTA, así como las condiciones de pobreza de la zona del Bañado y sus consecuencias en el cuidado de la salud, junto al mayor consumo de comidas rápidas y frituras que aumentarían el contenido de sal. Riveros ¹⁹, en una población de ancianos institucionalizados de Asunción, refirió una frecuencia inferior del 45%, esto relacionado posiblemente con los cuidados de la dieta, proveídos en los Hogares de Ancianos. La pluripatología fue superior a la reportada en “derechohabientes” mejicanos ^{20,21}, que sumado a la alta frecuencia de polifarmacia encontrada en nuestra población, superior al estudio de Cervantes y col. ²⁰, podría ocasionar un problema adicional por sinérgis-

mos y efectos adversos. La frecuencia de sobrepeso y obesidad, valorados según el IMC, fue superior a la hallada por Cortes y col. ¹⁵ y Santos e Silva y col. ²², y aproximada a la frecuencia reportada por Rendón y col. ²¹, probablemente relacionadas con los hábitos alimentarios de las regiones en las que se realizaron los trabajos y con la presencia o no de actividad física. Las elevadas frecuencias de factores de riesgo, como hipertensión, sobrepeso u obesidad, observadas en la población estudiada, son preocupantes, considerando que las principales causas de muerte en Paraguay son las enfermedades cardiovasculares ⁷, y más aún si se tiene en cuenta el efecto dañino del exceso de peso sobre las articulaciones.

Tabla 4

Análisis comparativo entre los grupos de adultos mayores dependientes e independientes para realizar las AVD de adultos mayores de consulta ambulatoria en el Hospital Geriátrico del Instituto de Previsión Social en Asunción, Paraguay.

Variables	Índice de Barthel (ABVD)				p*	Lawton & Brody (AIVD)				p*
	Dependencia n=46		Independencia n=62			Dependencia n=20		Independencia n=88		
	\bar{x}	\pm DS	\bar{x}	\pm DS		\bar{x}	\pm DS	\bar{x}	\pm DS	
Edad **	72,7	6,8	70,3	5,5	NS	75,6	7,2	70,4	5,5	0,01
IMC ***	30,5	5,4	28,3	5,2	0,04	30,6	4,5	28,9	5,5	NS
MNA	25,7	2,3	26,4	2,6	NS	25,3	2,0	26,3	2,6	NS
Yesavage	3,8	2,6	2,9	2,9	NS	4,1	2,3	3,1	2,8	NS
MMSE	15,6	3,4	16,7	2,1	NS	15,2	4,0	16,5	2,4	NS
Gijón	8,3	2,7	7,6	2,3	NS	8,4	2,5	7,8	2,5	NS

*:p<0,05; t de Student; **:edad en años; ***: IMC en Kg/m². AVD: Actividades de la vida diaria. ABVD: Actividades básicas de la vida diaria. AIVD: Actividades instrumentales de la vida diaria. MNA: puntaje Mini Nutritional Assessment. Yesavage: puntaje escala de depresión geriátrica abreviada. MMSE modif: puntaje Mini Examen del Estado Mental modificado. Gijón: puntaje valoración socio-familiar.

Es relevante el hallazgo de una frecuencia alta de personas con deterioro funcional en las ABVD, ya que intervenciones oportunas podrían prevenir daños mayores; es sabido que el Índice de Barthel es un buen predictor de morbilidad¹¹. La frecuencia hallada en las ABVD fue similar a la encontrada por Cortes y col.¹⁵ en derechohabientes de México (38%); sin embargo, el estudio realizado en Brasil en una comunidad urbana²³, reportó una frecuencia inferior a la nuestra (35%), mientras que otros estudios en derechohabientes mejicanos²¹, encontraron una dependencia de más del 80% para las ABVD y un tercio más elevado en las AIVD²⁰. Las diferencias podrían deberse al abordaje de los adultos mayores, según fuese domiciliario o en consultorio, si se encontraban encamados o con movilidad, a las razones por las que acuden a un centro de atención médica, y a la examinación realizada por un médico especializado en medicina geriátrica, que supone un proceso de valoración más integral. Al igual que en el presente estudio Chatterji y el grupo de expertos en envejecimiento²⁴ observaron que la proporción de li-

mitaciones en las AIVD es consistentemente más baja que en las ABVD en todos los países estudiados. En Paraguay, Piñanez y col.¹⁸, en una población de escasos recursos económicos y educativos, encontraron un 41% de dependencia del tipo severa y moderada en las ABVD, medido con el índice de Katz; esta frecuencia es similar a la encontrada en nuestro estudio, que presentó solo dependencia leve, posiblemente debido a que nuestra población poseía seguro social y su mayoría, comparativamente, tenía un mejor nivel socioeconómico. El análisis de la asociación entre factores sociodemográficos y antropométricos con el componente funcional, permitió identificar asociaciones significativas con las ABVD, como el mayor riesgo por el hecho de ser mujer y tener sobrepeso u obesidad. Hallazgos similares con el predominio femenino, fueron reportados por Dorantes y col.²⁵, Popoca y col.²⁶ y Carmona y col.²⁷ concordando con Formiga y col.²⁸ quienes refirieron que las mujeres se ven afectadas en una mayor proporción, debido a una esperanza de vida más larga ya una gran cantidad de comorbilidades. Nuestros resultados

son similares a los reportados en el estudio CASEN de Chile ²⁹ que reveló una asociación del exceso de peso con la dependencia funcional. Por otro lado, probablemente debido a que gran parte de nuestra población se ubicó en el rango menor a 75 años, no se pudo comprobar una asociación significativa entre la edad y la dependencia funcional, como describen otros estudios ^{25,27}. Sin embargo, al analizar las edades promedio, observamos para las AIVD, que la edad promedio en los adultos dependientes es significativamente mayor que en los independientes; para las ABVD la edad promedio de los dependientes fue también mayor que en los independientes, aunque no significativamente. Una revisión realizada por Chatterji y col. ²⁴ refirió que el análisis de los efectos de la edad, el período de estudio, y el tipo de cohorte en diferentes estudios, muestran un efecto lineal con una tendencia clara de niveles crecientes de discapacidad con la edad, también observado en nuestro análisis comparativo de las medias. Cabe destacar que los valores medios de los puntajes de los instrumentos utilizados en la VGI fueron menos favorables también para los dependientes.

Nuestro estudio tampoco encontró asociación con las variables socioeconómicas como sí lo reportan un estudio africano realizado en Nairobi, y un estudio longitudinal realizado en los países nórdicos donde se observaron diferencias socioeconómicas más marcadas ^{30,31}. La diferencia posiblemente se debe a que la mayoría en nuestra población recibe al menos un sueldo mínimo, ha alcanzado al menos un 6º grado de educación, y vive en pareja.

El nivel de riesgo social de Gijón, del 30%, fue una de las limitaciones más frecuentes en la población. El grupo de alto riesgo está compuesto por adultos mayores, con ingreso económico ocasional o sin ingresos, que depende de sus hijos o de trabajos ocasionales denominados “changas”. Estudios realizados en Colombia ³² y Perú ³³, presentaron un riesgo social superior. Las diferencias podrían deberse a algún contraste en el nivel socioeconómico de las poblaciones es-

tudiadas, o si los adultos mayores reciben o no un aporte jubilatorio o alguna prestación alimentaria para poblaciones vulnerables, de parte del Estado.

Cabe destacar la importancia de los datos aportados en este estudio, para conocer oportunamente las necesidades o problemáticas sociales de esta población y proveerla con una atención integral.

El bajo riesgo de desnutrición observado de acuerdo al MNA (18%), nos permite inferir que no es tarde para prevenir la desnutrición en esta población, antes de que tenga otras implicaciones en el estado de salud. Coincidiendo con nuestro estudio, otros autores tampoco encontraron una mayoría de adultos mayores desnutridos en Chile y España ^{34,35}, aunque si reportaron un riesgo de desnutrición ligeramente superior al reportado aquí; sin embargo, en México, Cervantes y col. ²⁰ hallaron una desnutrición establecida de 37% con un riesgo potencial de desnutrición inferior, probablemente debido a situaciones socioeconómicas dispares en las poblaciones estudiadas, o relativas al abordaje diferente del adulto mayor en una unidad de atención primaria de Medicina familiar y en un hospital geriátrico, ya que este último se adecuaría mejor a sus necesidades de asistencia y problemática de salud. La evidencia científica sugiere que el MNA predice el riesgo de malnutrición antes de la aplicación de parámetros antropométricos, bioquímicos e inmunológicos ⁵; en este sentido encontramos una mayor frecuencia de riesgo de desnutrición por el MNA que con la medición por el IMC, lo que destaca la importancia del MNA para la detección temprana de riesgo nutricional. En la valoración bioquímica, la baja frecuencia de hipoalbuminemia encontrada, correspondiente a desnutrición leve, coincide con la literatura ¹⁴; sin embargo la hipocolesterolemia y la linfopenia fueron superiores a lo reportado por Peña y col. ³⁶ y Abajo del Álamo y col. ³⁷ en adultos mayores internados, no obstante estos analitos podrían estar influidos por procesos inflamatorios y ser un factor de confusión, teniendo en cuenta que las

enfermedades reumáticas fueron la segunda morbilidad más frecuente, o por los efectos de medicinas hipolipemiantes y de la ingesta calórica en los niveles de colesterol.

En cuanto al déficit mental, encontramos una frecuencia inferior a la reportada en estudios en derechohabientes mexicanos^{16,21}, lo cual podría deberse a que el grado de déficit sensorial no fue medido en los grupos estudiados¹⁰; Cardozo y col.³⁸ encontraron depresión y dependencia funcional superior al 80% en pacientes internados, lo que refuerza la importancia de la evaluación y detección temprana de afecciones que cursan en la vejez, antes de que ocurra la internación.

Una fortaleza de nuestro estudio es que la VGI se realizó en una población ambulatoria que acudió al único hospital geriátrico referente del país. Esto permitió tener una perspectiva general de las condiciones de salud de este colectivo. Las debilidades fueron, que el estudio fue transversal, la exploración clínica no fue muy extensa, como para incluir pruebas visuales y auditivas, y la falta de un muestreo aleatorio.

La creciente población de adultos mayores en Paraguay y su demanda de mayores recursos económicos y de salud, presionan el sistema previsional. Este trabajo constituye una de las primeras publicaciones sobre adultos mayores ambulatorios en este país, aportando valiosos datos que permiten visualizar áreas comprometidas o en riesgo de declinación, y configurar información básica para desarrollar estrategias y acciones preventivas que promuevan un envejecimiento saludable.

AGRADECIMIENTO

A los voluntarios adultos mayores que participaron, al personal y autoridades del Hospital Geriátrico del IPS que permitieron el desarrollo de esta investigación, a los miembros del equipo del IICS que colaboraron en el trabajo de campo: Dominich Granada, Lourdes Rivas, y Sebastián Funes.

Conflicto de interés

Los autores no presentan conflicto de intereses.

Números ORCID de los autores

- Gloria Echagüe de Méndez (GE):
0000-0003-2536-8672
- Liliana Sosa de Sforza (LS):
0000-0002-5653-1703
- Patricia Funes Torres (PF):
0000-0001-6894-2422
- Ramona Valentina Díaz (VD):
0000-0003-2139-1314
- Margarita Ferrero de Echagüe (MF):
0000-0001-9437-9995
- Osvaldo Cardozo (OC):
0000-0001-8724-2800
- Marilina Florentín (MF):
0000-0001-7120-1123
- Estela Orué de González (EO):
0000-0002-8656-0038
- Rosa Franco (RF):
0000-0001-9544-1279

Contribuciones de autoría

- GE: concepción, diseño del trabajo, recolección/obtención de resultados, análisis e interpretación de datos, redacción del manuscrito, obtención de financiamiento.
- LS: concepción, diseño del trabajo, recolección/obtención de resultados, revisión crítica del manuscrito, aprobación de su versión final.
- PF: concepción, diseño del trabajo, recolección/obtención de resultados, revisión crítica del manuscrito, aprobación de su versión final, asesoría estadística.
- VD: recolección/obtención de resultados, revisión crítica del manuscrito, aprobación de su versión final.

- MF: concepción, diseño del trabajo, revisión crítica del manuscrito, aprobación de su versión final, aporte de pacientes y material de estudio.
- OC: revisión crítica del manuscrito, aprobación de su versión final, aporte de pacientes y material de estudio, asesoría técnica.
- MF: revisión crítica del manuscrito, aprobación de su versión final, aporte de pacientes y material de estudio.
- EO: revisión crítica del manuscrito, aprobación de su versión final, aporte de pacientes y material de estudio.
- RF: revisión crítica del manuscrito, aprobación de su versión final, aporte de pacientes y material de estudio.
- Todos los autores han leído y aprobado el manuscrito final para someter a la revista.

REFERENCIAS

1. **Organización Mundial de la Salud (OMS).** Década del envejecimiento saludable 2020-2030. Primer Informe de Progreso [Internet]. Ginebra: OMS; 2019 [citado el 19 de abril de 2021]. Disponible en <https://www.who.int/ageing/sdgs/en/>
2. **Organización Panamericana de la Salud (OPS).** La salud de los adultos mayores: una visión compartida [Internet]. Washington, D.C.: OPS; 2011. [citado el 19 de abril de 2021]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51598>.
3. **Organización Mundial de la Salud (OMS).** Informe mundial sobre el envejecimiento y la salud [Internet]. Ginebra: OMS; 2015. [citado el 20 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/ageing/publications/world-report-2015/es/>
4. **Mejía M, Rivera P, Urbina M, Alger J, Maradiaga E, Flores S, Rápalo S, Zúñiga L, Martínez C, Sierra L.** Discapacidad en el adulto mayor: características y factores relevantes. *Rev Fac Cienc Méd* 2014; 11(2):27-33 Disponible en: http://www.bvs.hn/Honduras/UICFCM/Articulo2_RFCMVol11-2-2014-5.Revision.Discapacidad.Adulto.Mayor.pdf
5. **Gálvez-Cano M, Chávez-Jimeno H, Aliaga-Díaz E.** Utilidad de la valoración geriátrica integral en la evaluación de la salud del adulto mayor. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2016; 33(2): 321-327. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17843/rp-mesp.2016.332.2204>.
6. **Dirección General de Estadística, Encuestas y Censos (DGEEC).** Secretaría técnica de planificación del desarrollo económico y social. Proyección de la Población Nacional, áreas urbana y rural por sexo y edad, 2000-2025. Revisión 2015. Paraguay. Disponible en <http://www.dgeec.gov.py/Publicaciones/Biblioteca/proyeccion%20nacional/Estimacion%20y%20proyeccion%20Nacional.pdf>
7. **Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSP y BS).** Organización Panamericana de la Salud (OPS). Organización Mundial de la Salud (OMS). Asunción, Paraguay: Indicadores básicos de salud; 2019. Disponible en: <http://portal.mspbs.gov.py/digies/wp-content/uploads/2020/01/Indicadores-Basicos-de-Salud-IBS-2019.pdf>
8. **Ministerio de Hacienda. Unidad de Economía Social.** La política de pensión alimentaria para adultos mayores en Paraguay. Resultados y desafíos. Asunción: Presidencia de la República del Paraguay; 2013. Disponible en <https://es.slideshare.net/géAm-py/libro-adultos-mayores-imprenta>.
9. **Hulley S, Cummings S, Warren B, Grady D, Newman T.** Diseño de investigaciones clínicas, 3a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
10. **Guía clínica para atención primaria a las personas adultas mayores: Promoción de la salud y envejecimiento activo.** En: Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Serie materiales de capacitación. Número 1 [Internet]. 4a ed. Washington: OPS; 2004 [citado 6 Febrero de 2020] Disponible en: <file:///C:/Users/Acer/Desktop/Guia%20clinica%20para%20la%20atenci%C3%B3n%20primaria%20del%20adulto%20mayor%20OPS%20OMS.pdf>
11. **Sanjoaquín A, Fernández E, Mesa MP, García-Arilla E.** Valoración geriátrica integral.

- En: Abellán Van Kan G, Abizanda Soler P, Giménez C, Albó Poquí A, Alfaro Acha A, Alonso Renedo J, *et al.* Tratado de geriatría para residentes. Madrid: Sociedad Española de Geriatría y Gerontología; 2006 [citado 2 Febrero 2020]. p. 59-68. Disponible en: https://www.segg.es/tratadogeriatría/pdf/s35-05%20000_primeras.pdf
12. **Trígas M, Ferreira L, Mejjide H.** Escalas de valoración funcional en el anciano. *Gaceta Clínica* 2011;72(1):11-16. Disponible en <https://galiciaclinica.info/pdf/11/225.pdf>
 13. **Evaluación del estado mental y emocional del adulto mayor.** En: Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Guía clínica para atención primaria a las personas adultas mayores: Promoción de la salud y envejecimiento activo. Serie materiales de capacitación. Número 1 /Internet/. 4a ed. Washington: OPS; 2004. p.47-55 [citado 6 Feb 2017] Disponible en: <file:///C:/Users/Acer/Desktop/Guia%20clinica%20para%20la%20atenci%C3%B3n%20primaria%20del%20adulto%20mayor%20OPS%20OMS.pdf>
 14. **Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud.** Protocolo 2: Atención general de la persona adulta en atención primaria de la salud. Asunción, Paraguay: Valoración Socio-Familiar; 2011. Disponible en https://www.paho.org/par/index.php?option=com_content&view=article&id=1028:manuales-atencion-primaria-salud&Itemid=213
 15. **Cortés A, Villarreal E, Galicia L, Martínez L, Vargas E.** Evaluación geriátrica integral del adulto mayor. *Rev Med Chile* 2011;139(6):725-731. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872011000600005>.
 16. **Cardona D, Segura A, Garzón M, Segura A, Cano S.** Estado de salud del adulto mayor de Antioquia, Colombia. *Rev Sujetadores Geriatr Gerontol* 2016; 19(1):71-86. <http://doi.org/10.1590/1809-9823.2016.14199>.
 17. **Secretaría Técnica de Planificación del Desarrollo económico y Social.** Korea International Cooperation Agency (KOICA). Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Instituto de Bienestar Social. Salud, bienestar y envejecimiento, Asunción Paraguay. Encuesta SABE Principales resultados. Junio 2018 [citado el 4 de octubre de 2020]. Disponible en <https://www.stp.gov.py/v1/sabe/>
 18. **Piñáñez MC, Re ML.** Perfil clínico, epidemiológico y valoración geriátrica funcional en el barrio San Miguel de Asunción, Paraguay. *Rev virtual Soc Parag Med Int* 2015; 2(2): 63-69. [http://dx.doi.org/10.18004/rvspmi/2312-3893/2015.02\(02\)63-069](http://dx.doi.org/10.18004/rvspmi/2312-3893/2015.02(02)63-069).
 19. **Riveros M.** Valoración de factores biopsicosociales determinantes del riesgo de desnutrición en los adultos mayores en hogares de ancianos. *An. Fac Cienc.Méd* 2015; 48 (2):17-31.
 20. **Cervantes R, Villareal E, Galicia L, Vargas E, Martínez L.** Estado de salud en el adulto mayor en atención primaria a partir de una valoración geriátrica integral. *Aten Primaria* 2015;47(6):329-335. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aprim.2014.07.007>.
 21. **Rendón-Orozco M, Rodríguez-Ledesma M.** Valoración clínica geriátrica integral en medicina familiar. *Rev Médi InstMex Seg Social* 2011;49(2):171-177. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457745501012>.
 22. **Silva D, Sousa I, Torres M.** Perfil Multidimensional da populacao idosa do bairro Sao Pedro em Teresina, Piauí. *Rev Fisioter S Fun* 2013;2(2):13-20. Disponible en <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/13541>.
 23. **Nunes D, Nakatani A, Silveira É, Bachion M, Souza M.** Capacidade funcional, condições socioeconômicas e de saúde de idosos atendidos por equipes de Saúde da Família de Goiânia (GO, Brasil). *Ciência & Saúde Coletiva* 2010; 15 (6): 2887-2898. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232010000600026>.
 24. **Chatterji S, Byles J, Cutler D, Seeman T, Verdes E.** Health, functioning, and disability in older adults--present status and future implications. *Lancet* 2015;385(9967):563-575. [http://doi:10.1016/S0140-6736\(14\)61462-8](http://doi:10.1016/S0140-6736(14)61462-8).
 25. **Dorantes G, Ávila J, Mejía S, Gutiérrez L.** Factores asociados con la dependencia funcional en los adultos mayores: un análisis secundario del estudio nacional sobre salud y envejecimiento en México, 2001. *Rev Panam Salud* 2007; 22(1):1-11. Disponible en: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892007000600001

26. **Popoca M, Cinta DM.** Factores asociados a la dependencia funcional del adulto mayor de acuerdo con el modelo biopsicosocial. Estudio transversal realizado en 2017 en la capital de Veracruz, México. *Rev Gerenc Polit Salud* 2020; 19. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.rgps19.fadl>
27. **Carmona-Torres JM, Rodríguez-Borrego MA, Laredo-Aguilera JA, López-Soto PJ, Santacruz-Salas E, Cobo-Cuenca AI.** Disability for basic and instrumental activities of daily living in older individuals. *PLoS One* 2019;14(7):e0220157. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0220157>
28. **Formiga F, Pujol R, Pérez-Castejon JM, Ferrer A, Henríquez E.** Low comorbidity and male sex in nonagenarian community-dwelling people are associated with better functional and cognitive abilities: The Nona Santfeliu study. *J Am Geriatr Soc* 2005;53(10):1836-1837. http://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2005.53528_4.x
29. **España, M.** Panorama CASEN. Dependencia funcional en las personas mayores. Santiago de Chile: Ministerio de desarrollo social y familia. Observatorio Social 2016; (1):1-10. Disponible en: http://observatorio.ministeriodesarrollosocial.gob.cl/storage/docs/panorama-casen/Panorama_Casen_Dependencia_funcional_personas_mayores_corr.pdf
30. **Gyasi RM, Aboderin I, Asiki G.** Prevalence and social risk factors of functional limitations among slum-dwelling older adults: findings from the Nairobi Urban Health and Demographic Surveillance System. *Gerontol Geriatr Med* 2022;(8):1-11. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35573080/>
31. **Enroth L, Veenstra M, Aartsen M, Kjaer AA, Nilsson CJ, Fors S.** Are there educational disparities in health and functioning among the oldest old? Evidence from the Nordic countries. *Eur J Ageing* 2019;16(4):415-424. <https://doi.org/10.1007/s10433-019-00517-x>
32. **Villarreal G, Month E.** Condición socio familiar, asistencial y de funcionalidad del adulto mayor de 65 años en dos comunas de Sincelejo (Colombia). *Salud Barranquilla* 2012; 28 (1): 75-87. Disponible en http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-55522012000100008&lng=en.
33. **Ruiz Dioses L, Campos León M, Peña N.** Situación socio familiar, valoración funcional y enfermedades prevalentes del adulto mayor que acude a establecimientos del primer nivel de atención, Callao 2006. *Rev Perú Med Exp Salud Pública* 2008; 25(4): 374-79. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000400005&lng=es.
34. **Urteaga C, Ramos R, Atalah E.** Validación del criterio de evaluación nutricional global del adulto mayor. *Rev Méd Chile* 2001; 129(8): 871-876. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872001000800005>
35. **Montejano Lozoya R, Ferrer Diego RM, Clemente Marín G y Martínez Alzamora N.** Estudio del riesgo nutricional en adultos mayores autónomos no institucionalizados. *Nutr Hosp* 2013; 28(5):1438-46. <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2013.28.5.6782>.
36. **Peña E, Meertens L, Solano L.** Valoración antropométrica y bioquímica de ancianos venezolanos institucionalizados. *Rev Esp Geriatr Gerontol* 2004; 39(6):360-366. [http://doi.org/10.1016/S0211-139X\(04\)74988-4](http://doi.org/10.1016/S0211-139X(04)74988-4).
37. **Abajo del Álamo C, García Rodicio S, Calabozo Freile B, Ausín Pérez L, Casado Pérez J, Catalá Pindado M. A.** Protocolo de valoración, seguimiento y actuación nutricional en un centro residencial para personas mayores. *Nutr Hosp* 2008; 23(2): 100-104. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S021216112008000200005&lng=es&tlng=es.
38. **Cardozo O, Aguilera E, Ferreira M, Diaz C.** Depresión y factores de riesgo asociados en pacientes geriátricos hospitalizados. *Mem Inst Investig Cienc Salud* 2017; 15(1): 48-56. [http://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2017.015\(01\)48-056](http://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2017.015(01)48-056).

Web-tools for the genomic analysis of the 2022 Monkeypox virus global outbreak.

Zoila C. Moros¹, Carmen L. Loureiro², Rossana C. Jaspe², Yoneira Sulbarán², Mariángel Delgado³, Olga Carolina Aristimuño¹, Christopher Franco¹, Domingo J. Garzaro², María José Rodríguez², Héctor R. Rangel², Ferdinando Liprandi⁴, Flor H. Pujol² and José Luis Zambrano¹

¹Laboratorio de Virología Celular, Centro de Microbiología y Biología Celular (CMBC), Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Miranda, Venezuela.

²Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Microbiología y Biología Celular (CMBC), Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Miranda, Venezuela.

³Unidad de Microscopía Electrónica y Confocal, Centro de Microbiología y Biología Celular (CMBC), Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Miranda, Venezuela.

⁴Laboratorio de Biología de Virus, Centro de Microbiología y Biología Celular (CMBC), Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Miranda, Venezuela.

Keywords: Monkeypox virus; outbreak; genome analysis; web tools; database.

Abstract. The resources and platforms available on the internet for collecting and sharing information and performing genomic sequence analysis have made it possible to follow closely the evolution of SARS-CoV-2. However, the current monkeypox outbreak in the world brings us back to the need to use these resources to appraise the extent of this outbreak. The objective of this work was an analysis of the information presented so far in the genomic database GISAID EpiPox™, using various tools available on the web. The results indicate that the monkeypox outbreak is referred as MPXV clade II B.1 lineage and sub-lineages, isolated from male patients mainly from the European and American continents. In the current scenario, the access to genomic sequences, epidemiological information, and tools available to the scientific community is of great importance for global public health in order to follow the evolution of pathogens.

Herramientas web para el análisis genómico del virus de la viruela símica durante el brote mundial de 2022.

Invest Clin 2023; 64 (1): 68 – 80

Palabras clave: virus de la viruela símica; brote; análisis genómico; herramientas web; bases de datos.

Resumen. Los recursos y plataformas disponibles en Internet para recopilar, compartir información y realizar análisis de secuencias genómicas han permitido seguir de cerca la evolución del SARS-CoV-2. El actual brote global de viruela del mono en el mundo, requiere de nuevo utilizar estos recursos para conocer el alcance de este brote. El objetivo de este trabajo fue un análisis de la información presentada hasta el momento en la base de datos genómica EpiPox™ de GISAID, utilizando diversas herramientas disponibles en la web. Los resultados indican que el brote de la viruela del mono o símica está referido al linaje y sub-linajes B.1 del clado II de MPXV, aislado principalmente de pacientes hombres de Europa y América. En el escenario actual, el acceso a las secuencias genómicas, la información epidemiológica, y las herramientas disponibles para la comunidad científica son de gran importancia para la salud pública mundial con el fin de seguir la evolución de los patógenos.

Received: 17-09-2022 Accepted: 29-10-2022

INTRODUCTION

The first half of 2022 marks the rise of the seventh peak of the SARS-CoV-2 pandemic worldwide due to the different sub-lineages of Omicron VOC ¹. Simultaneously, in May 2022, outbreaks of the monkeypox virus (MPXV) were confirmed outside the African continent. The first cases detected were in the United Kingdom, related to travelers returning from Nigeria, an African country that has historically reported monkeypox cases. However, this outbreak has spread to other countries in Europe, America, Asia, Australia, and other African countries. To date, more than 55,000 cases and 15 deaths have been reported in 75 countries worldwide ¹.

During the emergence of the first cases of monkeypox outside Africa, the World Health Organization (WHO) stated that the outbreak was considered of low impact on

the general population in the affected countries. However, in June 2022, the WHO declared that the outbreak of MPXV poses an evolving public health threat, confirming five deaths in Africa from this outbreak. Therefore, in July 2022, even without reaching a consensus of the WHO's Emergency Committee charged with assessing the outbreak, Tedros Adhanom Ghebreyesus, the General Director of WHO, declared that monkeypox constituted an international emergency as the outbreak met their requirements and stated that the health care should be taken as seriously as that of COVID-19 ¹.

MPXV is a species of the genus *Orthopoxvirus* of the family *Poxviridae* ², included in this viral group Variola (VARV) and Vaccinia viruses (VACV) ³. The MPXV genome consists of linear double-stranded DNA (\approx 198 kb) and it is covalently linked in its ends region by palindromic hairpins and inverted

terminal repeats (ITRs), which are formed by hairpin loops, tandem repeats, and some open reading frames (ORFs). Few conserved genes encoding virus-cell interaction proteins (ABCNMK) are located in the left and right terminal regions of the genome. In contrast, the more conserved genes (FEOPIGLJHD) with housekeeping functions are located in the central region of the genome⁴. It is known that of the 90 of the more conserved ORFs are known to be essential for poxvirus replication and morphogenesis. In contrast, many of the additional so-called non-essential and less conserved ORFs play a role in the differences in poxvirus host tropism, immunomodulation, and pathogenesis, and the part that many of the ORFs play is still unknown³.

MPXV causes monkeypox, a neglected zoonotic disease⁵ and has a wide range of hosts, including non-human primates, a variety of rodents (squirrels, rats, jerboa, woodchuck prairie dogs), civets, giant anteaters, antelopes, opossums and humans⁶. The natural reservoir of the virus is still unknown. Monkeypox is characterized by a lower case-fatality ratio than smallpox⁷. The incubation period of monkeypox is usually eight days but can range from four to 14 days⁸. Among the symptoms that people infected with MPXV develop are fever, chills, muscle, head and back pain. The most notorious sign is the development of papular skin lesions and rash³. Although most of the reported cases of 2022 MPXV outbreak are related to male patients who have sex with men, the monkeypox disease is not sexually transmitted but it can be spread mainly by close skin-to-skin contact between sexual partners⁹.

MPXV are grouped into two clades: Clade I (former Congo Basin) and Clade II (former West Africa) (Fig. 1). The Clade I, considered more pathogenic and found primarily in the Democratic Republic of the Congo and surrounding countries, was responsible for the first documented human case of MPXV in 1970. The clade hMPXV-1A II has been assigned as clade IIa lineages: A.1, (sub-lineage A.1.1), A.2 and, with the

current MPXV outbreak in 2022 a newly classified emerging clade IIb and lineage B.1 and sub-lineages: B.1.1, B.1.2, B.1.3, B.1.4, B.1.5, B.1.6, B.1.7, B.1.8^{10–12}. Lineage and sub-lineage assignments are based on 46 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) observed in the 2022 MPXV outbreak's strains compared with the NCBI Monkeypox reference sequence NC_063383¹³.

With the COVID-19 pandemic, we have learned an important lesson about the need for global surveillance of SARS-CoV-2 genetic sequences, as well as the importance of sharing metadata in public databases accessible to the scientific community. Thus, genomic surveillance has been an essential resource for monitoring and tracking the evolution of mutations that have driven the development of new and more pathogenic variants. This early genomic detection has

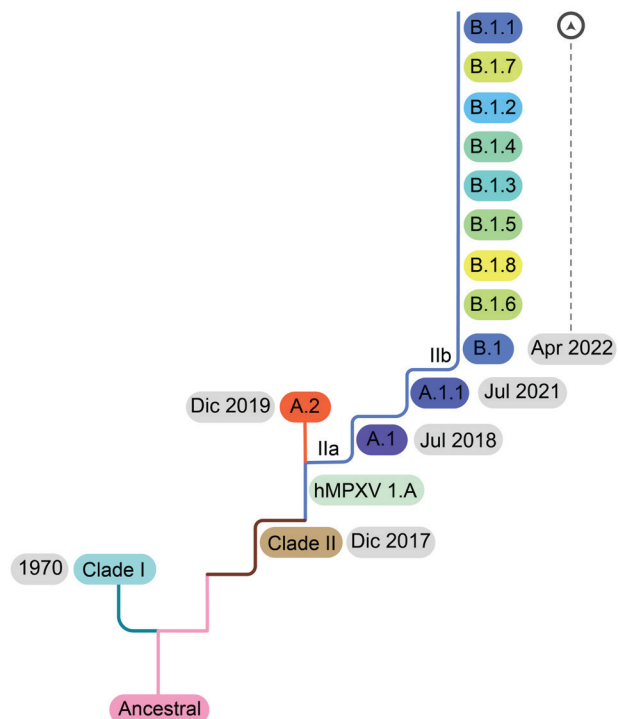


Fig. 1. Evolutionary features of monkeypox virus.

Representation of the evolution of the clades, lineages and sub-lineages of MPXV. Based on the Nextstrain website information. Lineages and sub-lineage colour by Nextstrain code colour.

raised our knowledge for the establishment of better treatments, the study of potential new drugs with antiviral activity, and new vaccines. Additionally, genomic surveillance has improved our understanding of how the virus can enhance its spread, as well as the geographic and temporal origin and the way of the global spread of new variants, and visualize the viral evolution in real-time¹⁴.

Among the global initiatives and efforts to publicly share SARS-CoV-2 pandemic metadata is the GISAID platform¹⁵. The GISAID Initiative promotes a rapid sharing of data on all influenza viruses and the coronavirus that causes COVID-19, and ensures open access to data free of charge to the scientific community. GISAID was born to allow public access to the latest avian influenza genetic sequences and as an alternative to the public domain sharing model by enabling data sharing between WHO Collaborating Centers and National Influenza Centers by creating the EpiFlu™ database. In 2020, the EpiCoV™ database was created at moment this new database contains more than 11 million complete SARS-CoV-2 sequences, making the EpiCoV™ database the principal repository for pandemic COVID-19.

For the current global outbreak of MPXV, the GISAID initiative created in 2022 a database called EpiPox™. The goal of this work is to know what epidemiological and genomic information can this database provide us on MPXV risk to global public health, using different web-tools currently available for this type of study.

MATERIALS AND METHODS

Data Source and curation

Data were extracted from the GISAID EpiPox™ database¹⁵. The cut date for available data was September 2, 2022. The data included in this study corresponded to the following inclusion criteria: sequences available from April 1 to September 2, 2022, and MXPV complete sequences with high coverage (less than 1% of undefined bases).

Data analysis

A multi-FASTA file of 940 complete MXPV sequences with high coverage including two reference sequences (Clade I: hMpxV/DRC/CDC-005/1978, Clade IIa: MpxV/USA/un-WRAIR7-61-P2/1962), was downloaded from the GISAID EpiPox™ database¹⁵ (Fig. 2). Viral genomic sequences are the main pipeline of this study, but we were also interested in connecting them with other available epidemiological data such as patient information: patient status, age, gender, type of sample specimen, date and location of origin of the MPXV isolates therefore additionally TSV files with the above-mentioned information were downloaded. The multi-FASTA file with nucleotide sequences and the TSV file with the samples epidemiological metadata are linked through the *accession_id* of the sequences.

With the TSV files with epidemiological metadata from the GISAID EpiPox™ database, a correlational analysis was performed through an alluvial flow diagram, which represents the correlations between categorical dimensions represented as a flow, visually connecting the shared categories. Each rectangle of the categories represents a single value in the selected dimension and its height is proportional to the value. Curved lines represent the correlations and their weight is proportional to the values. The alluvial diagram was executed in RAWGraphs. RAWGraphs is an open-source data visualization framework built for the visual representation of complex data¹⁶.

The multi-FASTA file of 940 complete MXPV sequences downloaded from the GISAID EpiPox™ database was first analysed using the *Monkeypox virus typing tool* from Genome Detective. Genome Detective is an intuitive Bio-Informatics application for the analysis of pathogenic microbial molecular sequence data¹⁷. Monkeypox virus typing tool is designed to use BLAST and phylogenetic methods to identify the *Monkeypox virus lineages (all clades)* of a nucleotide sequence. Genome Detective generates a re-

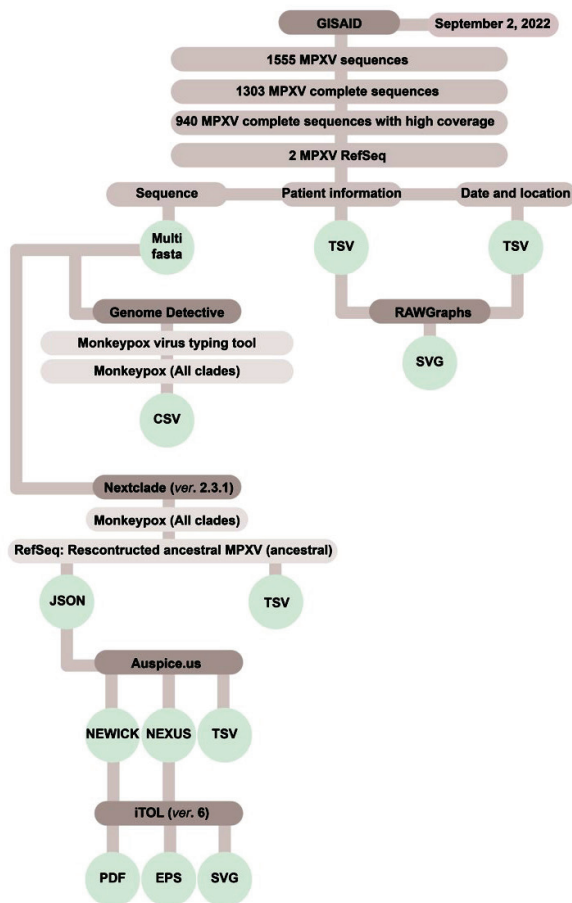


Fig. 2. Pipeline diagram showing the workflow, and web tools involved in this study from the sequences to the final outputs. The flow starts by collecting the complete MPXV sequence from GISAID EpiPox™. Additionally, data on patient status, date and place of origin of the MPXV sequences were also downloaded. An alluvial diagram was constructed in the RAWGraphs web-tool. The sequences were submitted and analyzed to Genome Detective and Nextclade. The phylogenetic tree was constructed in Auspice.us and edited in iTOL.

port with the specie assignment, subtyping, and sequence length as a CVS file.

Subsequently, the genomic sequences were analyzed in Nextclade (ver. 2.3.1)¹⁸. Nextclade, is a web-tool that performs based on Smith–Waterman alignment with an affine gap-penalty, that identifies differences between sequences and a reference sequence used by Nextstrain,¹⁸ an open-source project to analyze pathogen genome data, to as-

sign clades, mutation callings, and sequence quality¹⁸. For monkeypox, analysis, the *Monkeypox (all clades)* algorithm was used with a reference sequence of a reconstructed ancestral sequence of MPXV reporting phylogenetic analysis. JSON and TSV files were downloaded from Nextclade for gene tree analysis. The JSON file containing the phylogenomic datasets was analysed at Auspice.us¹⁸. Auspice.us is a web-tool for interactive exploration and visualizing phylogenomic datasets, also used by Nextstrain. From Auspice.us the files NEWICK and NEXUS were downloaded for further analysis and editing of the phylogenetic tree in iTOL (Interactive Tree of Life) (ver. 6)¹⁹. iTOL is a web-tool for the visualization, annotation and management of phylogenetic trees including clade distances¹⁹. The phylogenetic tree was downloaded in multiple formats (PDF, EPS, and SVG) for final editing and formatting in Illustrator CS (ver. 23.0.1).

A treemap graph and a sunburst diagram were constructed in RawGraphs²⁰, to analyze the proportion of genomic sequences and to identify the geographic distribution of lineages and sub-lineages, respectively. The treemap is composed of an area divided into small rectangles, representing the tree structure's last level based on the proportion of the lineage and sub-lineages. The size of the rectangles depends on the quantitative dimension. The sunburst diagram shows hierarchically structured data and a related quantitative dimension by concentric circles. The centre circle represents the root node (the continents), and the hierarchies (the continents following by sub-lineages) move outward from the center. The angle of each arc corresponds to the qualitative dimension.

RESULTS

MPXV sequences information

From April 1 to September 2, 2022, the GISAID database contained a total of 1555 submitted MPXV sequences, of which only

940 sequences were complete genome sequences with a high coverage; additionally, including two reference sequences were included. Most sequences were submitted between May 1 and August 31, 2022 (data not shown).

In the period studied for this work, 30 countries have submitted sequences to the GISAID EpiPox™ database. In Europe, the countries that have repositioned sequences are: Finland, Sweden, France, Slovenia, Italy, Austria, Netherlands, Portugal, UK, Germany, Spain, Hungary, Belgium and Slovakia. From America: USA, Canada, Ecuador, Chile, Brazil, Peru and Mexico. From Asia: South Korea, Indonesia, Thailand, Japan, Taiwan, Singapore and Israel. From Africa and Oceania: South Africa and Australia, respectively.

Inspection of the alluvial diagram for patterns of the complete MPXV sequences present in the EpiPox database shows that the vast majority of the deposited sequences of MPXV in EpiPox were from Europea (503 sequences - 53.51%), followed by America (423 sequences - 45%), and other sequences came from Oceania, Africa, and Asia (Fig. 3). The country with the highest number of sequences deposited in EpiPox™ is Germany (327 sequences – 34.78%), followed by USA, Canada, Peru, UK, Brazil, Portugal, and Netherland. The rest of the countries that have deposited sequences have less than ten sequences (between 1–8 sequences).

Unfortunately, not all the complete MPXV sequences have all the epidemiological information, *i.e.*, the vast majority of the

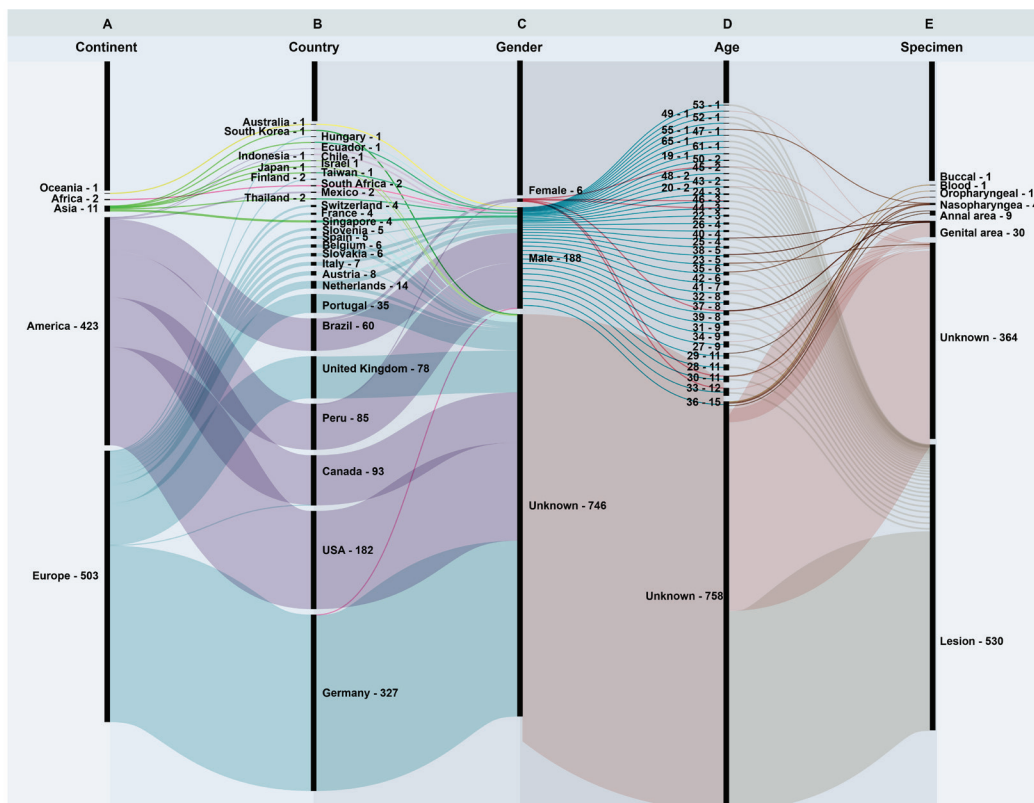


Fig. 3. Alluvial diagrams of the epidemiological information of the 940 complete GISAID EpiPox™ sequences. The alluvial diagram showing the correlations between categorical dimensions information flow patterns of the 940 complete GISAID EpiPox™ sequences with high coverage. The categories correlated were: A: continent, B: country, C: gender, D: age, and E: specimen (sample type origin). This information comes from patients, from whom the MPXV strains were isolated.

patient's gender is unknown (746 sequences – 79.36%). In the cases where this data was reported, the male gender corresponded to the main gender (188 sequences – 20%), while only six sequences were from female patients (0.63%).

Regarding the origin of the specimens of the MPXV sequences, most came from related lesion origin (including crusts and vesicles) (530 sequences – 56.38%). Other types of specimens specified came from nasopharyngeal, buccal, blood, anal and genital areas. For a large number of the specimens the origin of the samples was unknown (364 sequences – 38.72%).

MPXV sequences phylogenetic assignment

Of the 940 sequences obtained in GISAID EpiPox™, the Genome Detective web tool assigned 937 (99.7%) as MPXV of the clade II (Table 1) while identifying reference sequences as Variola virus and one as Abatino macacapox virus, both viruses affiliated to the genus *Orthopoxvirus*.

The Maximum Likelihood Phylogenetic tree of 940 whole genome sequences of MPXV was developed as per definitions of the GISAID clades using the Nextstrain algorithm (Fig. 4). The overall clades, lineages, and sub-lineages distribution were highlighted, revealing the dominant occurrence of lineage B.1 following the nomenclature proposed and described in Happi *et al.* [12] and recently endorsed by a WHO convened consultation [11]. The GISAID MPXV sequences were analyzed to characterize the diversity of clade II. All sequences were assigned within clade II within sub-lineage B.1

regardless of continent or country of origin, and only one sequence within sub-lineage A.2 from Thailand.

Globally, most sequences studied were assigned to the B.1 lineage of clade II (54.14%) followed by the sub-lineages B.1.1 (15%) > B.1.2 (7.55%) > B.1.6 (7.44%) > B.1.7 (5.10%) > B.1.3 (3.9%) > B.1.4 (2.34%) > B.1.8 (2.23%) > B.1.5 (2.12%) > A.2 (0.1%) (Fig. 5A). Within countries, the distribution is similar to the overall incidence observed, *i.e.*, B.1 prevails as the predominant lineage followed by sub-lineage B.1.1., in almost all the countries with some exceptions (Slovenia: B.1.3, Italy: B.1.5, Peru B.1.6, and Thailand: A.2) (Fig. 5B).

DISCUSSION

During a large-scale pandemic with an exponential spread such as COVID-19, research data have become an extremely important resource, especially regarding genomic surveillance of SARS-CoV-2. There are now several possibilities for sharing genomic sequences from research and diagnostics. Among the initiatives to share this type of data for biomedical researchers is the GISAID repository. The COVID-19 global health emergency has shown that to accelerate research and control of these infections, research data must be shared rapidly and widely, allowing many published epidemiological studies to be developed solely from open research data²¹.

MPXV is a neglected infectious pathogen and has re-emerged unexpectedly during the COVID-19 pandemic, becoming an

Table 1
Samples genotype assignment.

Blast assignment	Genotype assignment	Sequences count	Percentage
Abatino macacapox virus	Not assigned	1	0.106%
Monkeypox virus	Clade II	937	99.7%
Variola virus	Not assigned	2	0.213%
Total		940	100%

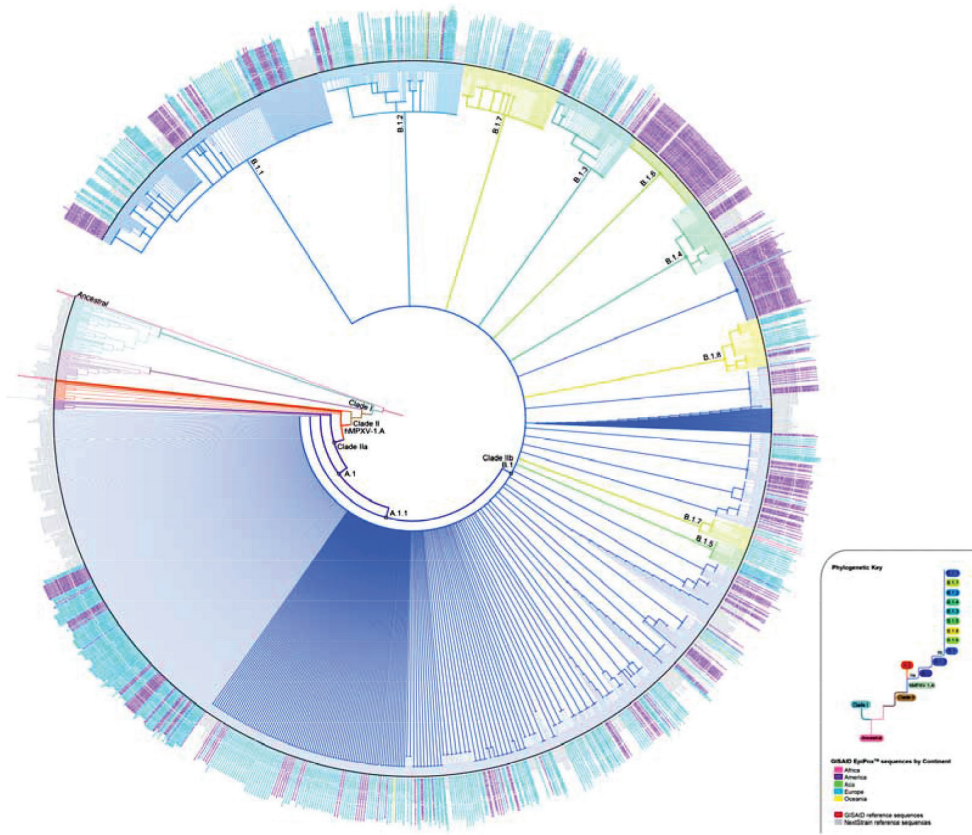


Fig. 4. Phylogeny analysis of MPXV 2022-year outbreak. Phylogeny analysis of MPXV using 940 genome sequences from GISAID EpiPox™, plus two reference sequences. The circular phylogenetic tree is divided into clades. Clade II was divided by the group and sub-groups lineages: hMPXV 1.A, A.1, A.2, A.1.1 and B.1 identified by NextStrain code colour. Sequence colours were identified by each continent origin and grey colour for reference sequences.

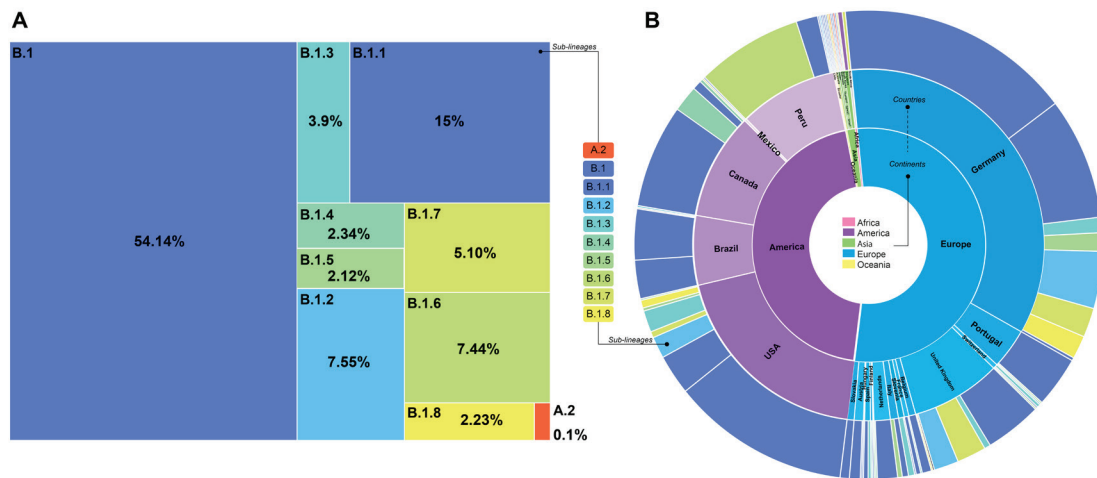


Fig. 5. Proportion and geographic distribution of MPXV Clade II lineages and sub-lineages. A: Treemap graph based on the proportion of the clade II lineage and sub-lineages. B: Sunburst diagram showing hierarchically nodes (the continents, countries and lineage and sub-lineages). Lineages and sub-lineage colour by NextStrain code colour.

outbreak of global concern to the worldwide health burden. As of June 2022, more than 75 countries have detected this virus; more than 55,000 confirmed cases had been confirmed, making it the largest outbreak outside of Africa since its discovery in the 1970s. The rapid spread of this virus is evidenced by the fact that they are travel-related²².

In this study, we used the information deposited in the GISAID EpiPox™ database uploaded during April and September, 2022 and analyzed it using different web-tools. The vast majority of the sequences retrieved from GISAID are from the European continent, probably due to the center and origin of this MPXV outbreak later spreading mainly to the American continent. In addition, most samples were derived from male gender patients. These results are consistent with early-published reports of the MPXV outbreak²³.

Our analysis shows that the sequences recovered from the GISAID EpiPox™ database from the recent outbreak of monkeypox in several countries, which initiated in April 2022, are derived from the B.1 monkeypox clade II. These results are similar to earlier-published reports^{24–29}, consistent with the reported mild severity and few deaths associated with the clade II^{30,31}.

Interestingly, sequences from only 30 countries have been deposited in GISAID in the period covered in this work. This contrasts the global data where at least 100 countries and territories with confirmed cases of MPXV have been reported³². Notably, only five sequences from Spain were found for our analysis, a country with almost 7000 cases reported. Moreover, although cases have been reported in several African countries such as Cameroon, Central African Republic, Democratic Republic of the Congo, Ghana, Liberia, Nigeria, Republic of the Congo, no sequences from those countries were found in the database. Only two sequences were obtained from South Africa, a country that, like the rest of the countries analyzed in this study, has not historically reported monkeypox cases³².

In Latin America, the sequences submitted by Peru indicate a different behavior with respect to the rest of the countries on the American continent. Most Peruvian sequences were assigned to B.1.6., a new lineage identified in the South American country and characterized by the nucleotide mutation G111029A³³. This specific type of mutation is characteristic of the action of the APOBEC3 family of deaminases. This enzyme acts on single-stranded DNA to deaminate cytosine to uracil, causing a G→A mutation on the other strand when it is newly synthesized^{34,35}. It has been reported that APOBEC3G in *vif*-defective HIV-1 virus, APOBEC molecules are packaged into the virion and induce large numbers of mutations^{35,36}. APOBEC3 type mutations have been observed within eight genomes sampled from an outbreak in Portugal^{25,37}.

The appearance of new sub-lineages in such a short period (April–September, 2022) indicates the rapid evolution and dynamics of this virus, possibly due to the changes generated by the spread of the virus outside the African continent where it was confined. However, further genetic, molecular, and perhaps external factors, such as environmental and human societal habits, need to be studied to understand better how MPXV evolves.

GISAID database publicly accessible database has allowed collaboration among researchers around the world to contribute to the understanding of the development and evolution of the SARS-CoV-2 pandemic and its impact on global public health. As well as access to near real-time variant emergence and key mutations and understanding the pathogenesis of the viruses, it has contributed to the study and development of potential new vaccines and drugs^{38,39}. GISAID EpiPox™ database is also expected to play a significant role in the surveillance of this new global outbreak of MPXV. However, it is essential to overcome the difficulties of collecting epidemiological data, to have a better and complete epidemiological landscape

that will improve the monitoring of the current outbreak of MPXV.

ACKNOWLEDGEMENTS

We gratefully acknowledge the authors, curators, and submitters from the originating and submitting laboratories of the MPXV genomic sequences from GISAID EpiPox™ Database on which this research is based, a full acknowledgment table for all GISAID authors can be downloaded at <https://bit.ly/3wWZ1Hb>. We also acknowledge GISAID initiative, Genome Detective, Nexstrain, Nextclade, Auspice.us, iTOL, and RAW-Graphs web tool resources used in this study.

Funding

This project was funded by project IVIC#1107: Viral pathogenesis mechanisms.

Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Author's ORCID numbers

- Zoila C Moros (CZM)
0000-0001-6322-9230
- Carmen L Loureiro (CLL)
0000-0003-3665-1107
- Rossana C Jaspe (RCJ)
0000-0002-4816-1378
- Mariángel Delgado (MD)
0000-0002-8089-5873
- Olga Carolina Aristimuño (OCA)
0000-0001-7646-8302
- Christopher Franco (CF)
0000-0002-1851-1226
- Yoneira Sulbarán (YS)
0000-0002-3170-353X
- Domingo J Garzaro (DJG)
0000-0002-9956-5786

- Mariajosé Rodríguez (MR)
0000-0002-8898-0546
- Héctor R Rangel (HRR)
0000-0001-5937-9690
- Ferdinando Liprandi (FL)
0000-0001-8084-8252
- Flor H Pujol (FHP)
0000-0001-6086-6883
- José Luis Zambrano (JLZ)
0000-0001-9884-2940

Authors contribution

Design of the study: JLZ. Implementation of the research and writing of the manuscript: JLZ, ZCM, CLL, RCJ, and FHP. Discussed the results and contributed to the final manuscript: ZCM, CLL, RCJ, YS, MD, OCA, CF, MH, DJG, MR, HRR, FL, FHP, and JLZ. Data visualization: JLZ. All the authors have read and approved the final version of the manuscript. ZCM and CLL contributed equally to this study.

REFERENCES

1. **World Health Organization (WHO)**. Meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the multi-country monkeypox outbreak. Accessed July 22, 2022. [https://www.who.int/news/item/25-06-2022-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee--regarding-the-multi-country-monkeypox-outbreak](https://www.who.int/news/item/25-06-2022-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee--regarding-the-multi-country-monkeypox-outbreak)
2. **Prier JE, Sauer RM**. A Pox Disease of Monkeys. *Ann N Y Acad Sci* 1960;85(3):951-959. [doi:10.1111/J.1749-6632.1960.TB50015.X](https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.1960.TB50015.X).
3. **Kmiec D, Kirchhoff F**. Monkeypox: A new treat? *Int J Mol Sci* 2022;23(14):7866. [doi:10.3390/IJMS23147866](https://doi.org/10.3390/IJMS23147866)
4. **Alakunle E, Moens U, Nchinda G, Okeke MI**. Monkeypox Virus in Nigeria: infection biology, epidemiology, and evolution. *Viruses* 2020;12(11):1257. [doi:10.3390/V12111257](https://doi.org/10.3390/V12111257)
5. **Alakunle EF, Okeke MI**. Monkeypox virus: a neglected zoonotic pathogen spreads globally. *Nat Rev Microbiol* Published online

- July 20, 2022;1. doi:10.1038/S41579-022-00776-Z
6. **Silva NIO, de Oliveira JS, Kroon EG, Trindade G de S, Drumond BP.** Here, there, and everywhere: the wide host range and geographic distribution of zoonotic orthopoxviruses. *Viruses* 2020;13(1):43. doi:10.3390/V13010043
 7. **Yurchenko V, Riccò M, Ferraro P, Camisa V, Satta E, Zaniboni A, Ranzieri S, Baldassarre A, Zaffina S, Marchesi F.** When a neglected tropical disease goes global: knowledge, attitudes and practices of Italian physicians towards monkeypox, preliminary results. *Trop Med Infect Dis* 2022;7(7):135. doi:10.3390/TROPICALMED7070135
 8. **Nolen LD, Osadebe L, Katomba J, Likofata J, Mukadi D, Monroe B, Doty J, Hughes CM, Kabamba J, Malekani J, Bomponda PL, Lokota JI, Balilo MP, Likafi T, Shongo Lushima R, Kebela Ilunga B, Nkawa F, Pukuta E, Karhemere S, Muyembe Tamfum JJ, Nguete B, Okitolonda Wemakoy E, McCollum AM, Reynolds MG.** Extended human-to-human transmission during a Monkeypox outbreak in the Democratic Republic of the Congo. *Emerg Infect Dis* 2016;22(6):1014. doi:10.3201/EID2206.150579
 9. **Rodriguez-Morales AJ, Lopardo G.** Monkeypox: another sexually transmitted infection? *Pathogens* 2022;11(7):713. doi:10.3390/PATHOGENS11070713
 10. **Luna N, Ramírez AL, Muñoz M, Ballesteros N, Patiño LH, Castañeda SA, Bonilla-Aldana DK, Paniz-Mondolfi A, Ramírez JD.** Phylogenomic analysis of the monkeypox virus (MPXV) 2022 outbreak: Emergence of a novel viral lineage? *Travel Med Infect Dis* 2022;49:102402. doi:10.1016/J.TMAID.2022.102402
 11. **World Health Organization (WHO).** Monkeypox: experts give virus variants new names. Accessed September 5, 2022. <https://www.who.int/news/item/12-08-2022-monkeypox-experts-give-virus-variants-new-names>
 12. **Happi C, Adetifa I, Mbala P, Njouom R, Nakoune E, Happi A, Ndodo N, Ayansola O, Mboowa G, Bedford T, Neher RA, Roemer C, Hodcroft E, Tegally H, O'Toole A, Rambaut A, Pybus O, Kraemer MUG, Wilkinson E, Isidro J, Borges V, Pinto M, Gomes JP, Baxter C, Lessells R, Ogburn AE, Kebede Y, Tessema SK, de Oliveira T.** Urgent need for a non-discriminatory and non-stigmatizing nomenclature for monkeypox virus - Monkeypox - *Virological*. Accessed September 5, 2022. <https://virological.org/t/urgent-need-for-a-non-discriminatory-and-non-stigmatizing-nomenclature-for-monkeypox-virus/853>
 13. **Wang L, Shang J, Weng S, Aliyari SR, Chengyang Ji, Cheng G, Wu A.** Genomic annotation and molecular evolution of monkeypox virus outbreak in 2022. *J Med Virol* Published online July 29, 2022. doi:10.1002/JMV.28036
 14. **Saravanan KA, Panigrahi M, Kumar H, Rajawat D, Nayak SS, Bhushan B, Dutt T.** Role of genomics in combating COVID-19 pandemic. *Gene* 2022;823:146387. doi:10.1016/J.GENE.2022.146387
 15. **Elbe S, Buckland-Merrett G.** Data, disease and diplomacy: GISAID's innovative contribution to global health. *Global Challenges* 2017;1(1):33-46. doi:10.1002/GCH2.1018
 16. **Mauri M, Elli T, Caviglia G, Ubaldi G, Azzi M.** RAWGraphs: A visualisation platform to create open outputs. *ACM International Conference Proceeding Series*. 2017;Part F131371. doi:10.1145/3125571.3125585
 17. **Vilsker M, Moosa Y, Nooij S, Fonseca V, Ghysens Y, Dumon K, Pauwels R, Alcántara LC, vanden Eynden E, Vandamme AM, Deforche K, de Oliveira T.** Genome Detective: an automated system for virus identification from high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 2019;35(5):871-873. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTY695
 18. **Hadfield J, Megill C, Bell SM, Huddleston J, Potter B, Callender C, Sagulenko P, Bedford T, Neher RA.** NextStrain: Real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics* 2018;34(23):4121-4123. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTY407
 19. **Letunic I, Bork P.** Interactive tree of life (iTOL) v5: An online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res* 2021;49(W1):W293-W296. doi:10.1093/NAR/GKAB301
 20. **Mauri M, Elli T, Caviglia G, Ubaldi G, Azzi M.** RAWGraphs: A visualisation platform to create open outputs. *ACM International Conference Proceeding Series*. 2017;Part F131371. doi:10.1145/3125571.3125585

21. **Lucas-Dominguez R, Alonso-Arroyo A, Vidal-Infer A, Aleixandre-Benavent R.** The sharing of research data facing the COVID-19 pandemic. *Scientometrics* 2021; 126(6):4975. doi:10.1007/S11192-021-03971-6
22. **Adegboye OA, Castellanos ME, Alele FO, Pak A, Ezechukwu HC, Hou K, Emeto TI.** Travel-related Monkeypox outbreaks in the era of COVID-19 pandemic: are we prepared? *Viruses* 2022;14(6):1283. doi:10.3390/V14061283
23. **World Health Organization (WHO).** Multi-country monkeypox outbreak: situation update. Accessed August 1, 2022. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON393>
24. **Mauldin MR, McCollum AM, Nakazawa YJ, Mandra A, Whitehouse ER, Davidson W, Zhao H, Gao J, Li Y, Doty J, Yinka-Ogunleye A, Akinpelu A, Aruna O, Naidoo D, Lewandowski K, Afrough B, Graham V, Aarons E, Hewson R, Vipond R, Dunning J, Chand M, Brown C, Cohen-Gihon I, Erez N, Shifman O, Israeli O, Sharon M, Schwartz E, Beth-Din A, Zvi A, Mak TM, Ng YK, Cui L, Lin RTP, Olson VA, Brooks T, Paran N, Ihekweazu C, Reynolds MG.** Exportation of Monkeypox Virus from the African continent. *J Infect Dis* 2022;225(8):1367-1376. doi:10.1093/INFDIS/JIAA559
25. **Selhorst P, Rezende AM, de Block T, Coppens S, Smet H, Mariën J, Hauner A, Brosius I, Liesenborghs L, Bottieau E, Florence E, Bangwen E, Ariën K, Van Esbroeck M, Kenyon C, Vercauteren K.** Belgian case of Monkeypox virus linked to outbreak in Portugal - Monkeypox / Genome Reports - Virological. Accessed August 2, 2022. <https://virological.org/t/belgian-case-of-monkeypox-virus-linked-to-outbreak-in-portugal/801>
26. **Isidro J, Borges V, Pinto M, Ferreira R, Sobral D, Nunes A, Santos JD, Borrego MJ, Nuncio S, Pelerito A, Cordeiro R, Gomes JP.** First draft genome sequence of Monkeypox virus associated with the suspected multi-country outbreak, May 2022 (confirmed case in Portugal) - Monkeypox / Genome Reports - Virological. Accessed August 2, 2022. <https://virological.org/t/first-draft-genome-sequence-of-monkeypox-virus-associated-with-the-suspected-multi-country-outbreak-may-2022-confirmed-case-in-portugal/799>
27. **Laiton-Donato K, Álvarez-Díaz DA, Franco-Muñoz C, Ruiz-Moreno HA, Rojas-Estevez P, Prada A, Rosales A, Ospina ML, Mercado-Reyes M.** Monkeypox virus genome sequence from an imported case in Colombia - Monkeypox / Genome Reports - Virological. Accessed August 2, 2022. <https://virological.org/t/monkeypox-virus-genome-sequence-from-an-imported-case-in-colombia/880>
28. **Galán-Huerta KA, Paz-Infanzon M, Nuzolo-Shihadeh L, Ruiz-Higareda AF, Bocanegra-Ibarias P, Zacarias-Villarea D, Yamallel-Ortega LA, Guerrero-Putz MD, Ocampo-Candiani J, Rivas-Estilla AM, Camacho-Ortiz A.** First Monkeypox virus sequence from northern Mexico - Monkeypox / Genome Reports - Virological. Accessed August 2, 2022. <https://virological.org/t/first-monkeypox-virus-sequence-from-northern-mexico/882>
29. **Croxen M, Deo A, Dieu P, Dong X, Ferrato C, Gill K, Granger D, Ikkurti V, Kanji J, Koleva P, Li V, Lloyd C, Lynch T, Ma R, Pabbaraju K, Rotich S, Sergeant H, Shideler S, Skitsko T, Shokoples S, Tipples G, Thayer J, Wong A.** Two draft Canadian monkeypox virus (MPXV) genomes, June 2022 - Monkeypox / Genome Reports - Virological. Accessed August 2, 2022. <https://virological.org/t/two-draft-canadian-monkeypox-virus-mpxv-genomes-june-2022/870>
30. **Kumar S, Subramaniam G, Karuppanan K.** Human monkeypox outbreak in 2022. *J Med Virol Epub* 2022 Jun 6. doi:10.1002/JMV.27894
31. **World Health Organization (WHO).** Multi-country monkeypox outbreak: situation update. Accessed August 2, 2022. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON390>
32. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** 2022 Monkeypox Outbreak Global Map | Monkeypox | Poxvirus | CDC. Accessed September 6, 2022. <https://www.cdc.gov/poxvirus/monkeypox/response/2022/world-map.html>
33. **Instituto Nacional de Salud.** Peru identifies monkeypox virus B.1.6 lineage - Outbreak News Today. Accessed September 6, 2022. <https://web.ins.gob.pe/>

34. **O'Toole A, Rambaut A.** Initial observations about putative APOBEC3 deaminase editing driving short-term evolution of MPXV since 2017 - Monkeypox / Evolution - Virological. Accessed September 6, 2022. https://virological.org/t/initial-observations-about-putative-apobec3-deaminase-editing-driving-short-term-evolution-of-mpxv-since-2017/830#post_1
35. **Yu Q, König R, Pillai S, Chiles K, Kearney M, Palmer S, Richman D, Coffin JM, Landau NR.** Single-strand specificity of APOBEC3G accounts for minus-strand deamination of the HIV genome. *Nat Struct Mol Biol* 2004;11(5):435-442. doi:10.1038/NSMB758
36. **Armitage AE, Katzourakis A, de Oliveira T, Welch JJ, Belshaw R, Bishop KN, Kramer B, McMichael AJ, Rambaut A, Iversen AKN.** Conserved footprints of APOBEC3G on Hypermutated human immunodeficiency virus type 1 and human endogenous retrovirus HERV-K(HML2) sequences. *J Virol* 2008;82(17):8743-8761. doi:10.1128/JVI.00584-08
37. **Isidro J, Borges V, Pinto M, Sobral D, Santos JD, Nunes A, Mixão V, Ferreira R, Santos D, Duarte S, Vieira L, Borrego MJ, Nuncio S, de Carvalho IL, Pelerito A, Cordeiro R, Gomes JP.** Phylogenomic characterization and signs of microevolution in the 2022 multi-country outbreak of monkeypox virus. *Nat Med* 2022;28(8). doi:10.1038/S41591-022-01907-Y
38. **Abubaker Bagabir S, Ibrahim NK, Abubaker Bagabir H, Hashem Ateeq R.** Covid-19 and Artificial Intelligence: Genome sequencing, drug development and vaccine discovery. *J Infect Public Health* 2022;15(2):289. doi:10.1016/J.JIPH.2022.01.011.
39. **Kharisma VD, Ansori ANM.** Construction of epitope-based peptide vaccine against SARS-CoV-2: Immunoinformatics study. *J Pure Appl Microbiol* 2020;14(Suppl1):999-1005. doi:10.22207/JPAM.14.SPL1.38.

Evidencia de la efectividad del uso de aparatología ortopédica prequirúrgica en pacientes con labio y paladar hendido: revisión sistemática.

Gonzalo Artuza-Rosado¹, Liliana Argueta-Figueroa², Mario A. Bautista-Hernández³ y Rafael Torres-Rosas⁴

¹ Especialidad en Ortodoncia, División de Posgrado, Facultad de Odontología, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca (UABJO), Oaxaca, México.

² CONACYT, Facultad de Odontología, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca (UABJO). Oaxaca, México.

³ Clínica de ortodoncia asociada al Centro de Estudios en Ciencias de la Salud y la Enfermedad, División de posgrado, de Facultad de Odontología, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca (UABJO). Oaxaca, México.

⁴ Centro de Estudios en Ciencias de la Salud y la Enfermedad, División de posgrado, de Facultad de Odontología, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca (UABJO). Oaxaca, México.

Palabras clave: odontología; aparatología ortopédica prequirúrgica; enfoque no quirúrgico.

Resumen. El objetivo de este artículo fue evaluar la evidencia sobre el uso de una aparatología ortopédica prequirúrgica (AOP) en pacientes con labio y paladar hendido. Se realizó una búsqueda en las siguientes bases de datos: Medline/PubMed, Google Scholar, Clinical Trails.gov, ProQuest y Web of Science. En la búsqueda, se encontraron 7.926 registros, de los cuales se analizaron 105 artículos de texto completo; de éstos se incluyeron 23 estudios en pacientes con uso de AOP, así como su grupo control sin el uso del AOP, previo al mismo tipo de cirugía. Los aparatos más utilizados para la AOP en el manejo de LPH fueron: el paladar pasivo (Paladar de Hotz), el modelador nasolaveolar (NAM), aparato McNeil y por último el T-traction; los principales desenlaces evaluados fueron: la estética facial y apariencia nasal; la evaluación de medidas cefalométricas, de vías aéreas superiores, nasales, del ancho de la fisura y así como puntos de referencia anatómicos como la distancia inter-canina e inter-tuberosidad. Además, se encontraron estudios que evaluaron oclusión y la fonación. La evidencia de esta literatura sugiere que el uso de aparatos activos tiene un mejor efecto que la placa pasiva, en términos de estética facial y aproximación de los segmentos maxilares para el cierre de la fisura. Sin embargo, la heterogeneidad, el riesgo de sesgo y la baja calidad de los estudios no permite tener conclusiones sólidas.

Evidence of the effectiveness of the use of presurgical orthopedic appliances in patients with cleft lip and palate: a systematic review.

Invest Clin 2023; 64 (1): 81 – 107

Keywords: dentistry; presurgical orthopedic appliances; non-surgical approach.

Abstract. This review article aimed to evaluate the evidence on the use of a presurgical orthopedic appliance (POP) in patients with cleft lip and palate. The search was conducted using Medline/PubMed, Scholar Google, Clinical Trails, ProQuest, Scopus, and Web of Science databases. During the search, 7,926 records were found, of which 105 full-text articles were analyzed, and 23 studies included analysis in patients with the use of POP, and their control groups without the use of POP prior to the same type of surgery. The devices most used for POP in the management of LPH were: the passive palate (Hotz palate), the nasolaveolar moulding (NAM), the McNeil device, and finally, the T-traction. The primary outcomes evaluated were: facial aesthetics and nasal appearance; the evaluation of cephalometric measurements, upper airways, nasal fissure width, as well as anatomical references such as inter-canine and inter-tuberosity distances. In addition, studies that evaluated occlusion and phonation were found. The evidence from this literature suggests that the use of active appliances had a better effect than passive appliances in terms of facial aesthetics and approximation of the maxillary segments for the closure of the fissure. However, the heterogeneity, the risk of bias, and the low quality of the studies do not allow to state firm conclusions.

Recibido: 06-03-2022 Aceptado: 05-09-2022

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, uno de los defectos orofaciales más comunes en el labio y paladar hendido (LPH). Esta patología es de importancia en la salud infantil debido a que genera una alimentación deficiente ¹, alteraciones en el habla, audición, cognición, así como las propias características anties-téticas que conlleva la falta de fusión de los procesos nasomaxilares, todo lo cual genera una falta de integración social. La incidencia de LPH es de 1:1,000 nacidos vivos, aunque puede variar dependiendo de la raza (caucásico, asiático, africano) ²; en términos de sexo existe una relación 2:1 con predominio en el masculino. Los pacientes afectados con LPH, preferentemente, deben ser evaluados

de manera integral por un equipo multidisciplinario ya que estas malformaciones no siempre se presentan de manera aislada y, por lo regular, son parte de algún síndrome u anomalía genética ^{3,4}.

El enfoque de atención depende del especialista tratante, difiriendo entre escuelas de formación médica-odontológica. Los pacientes pediátricos con LPH requieren ser atendidos por un grupo multidisciplinario para ofrecerles una rehabilitación funcional y estética, así como un bienestar familiar e integración social. La Asociación Americana del Paladar Hendido-Craneofacial (American Cleft Palate-Craniofacial Association; ACPA, por sus siglas en inglés) recomienda diversas especialidades del área de la salud para atender a los pacientes con LPH; entre ellas

destacan: cirugía, otorrinolaringología, foniatría, audiología, odontología, psiquiatría, genética y pediatría^{5,6}. Hasta el momento no hay una Guía de Práctica Clínica con recomendaciones fundamentadas en la Medicina basada en Evidencia, para tratar a los pacientes con LPH y, aunque no hay un protocolo establecido para el tratamiento integral del paciente con LPH⁷, existen principalmente dos vertientes de protocolos de atención: 1.- Protocolo quirúrgico exclusivo y 2.- Ortopédico primario, seguido de la fase quirúrgica². Con base en esto, el objetivo de este trabajo es realizar una búsqueda sistemática de los diferentes protocolos de atención con aparatología ortopédica prequirúrgica (AOP) y su efectividad en el tratamiento de LPH.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Se consideraron elegibles ensayos clínicos aleatorizados y no aleatorizados, así como estudios observacionales en pacientes con LPH tratados con AOP y su grupo de comparación sin AOP que fueron posteriormente intervenidos con el mismo tipo de cirugía. Por el contrario, se excluyeron estudios observacionales sin grupo control, reportes de caso, estudios en animales y revisiones de la literatura.

Criterios de elegibilidad y características de los participantes del estudio

Los criterios de elegibilidad de los estudios incluidos estuvieron definidos acorde a las definiciones PICO (Población, Intervención, comparador y desenlace). Se incluyeron artículos de tratamiento ortopédico prequirúrgico en pacientes con LPH.

Población: Pacientes con labio paladar hendido unilateral (UCLP) o bilateral (BCLP).

Intervenciones: Uso de alguno de los siguientes AOP:

- a. NAM: Aparato de acrílico que abarca la superficie del paladar con una punta que sobresale de la fisura del paciente,

con un *stent* nasal hecho de alambre de acero, que se activa con modificaciones semanales o quincenales. El NAM se usa al mismo tiempo con bandas elásticas que se ajustan con cinta adhesiva a la mejilla del paciente.

- b. McNeil: Esta aparatología consiste en dos porciones de acrílico que se adosan a los rebordes alveolares y están unidas por un resorte de alambre en la porción posterior del paladar.
- c. Paladar de Hotz: Aparato de acrílico que cubre la fisura y se adosa al paladar.
- d. T-traction: Es un dispositivo externo en forma de T que se inserta en la fosa nasal del lado no hendido y se fija con bandas elásticas.

Comparador: Grupo control con pacientes sin AOP.

Desenlace: Apariencia facial y nasal, oclusión, fonación, cierre de fisura y conformación del arco maxilar, cefalometría, evaluación de la vía aérea superior.

Estrategia de búsqueda

La búsqueda se realizó en las bases de datos electrónicas PubMed, Google Scholar, Clinical Trials, ProQuest y Web of Science. Además, la búsqueda de la literatura gris se llevó a cabo en Google Académico. Las palabras clave y los algoritmos de búsqueda se muestran en la Tabla 1. La revisión de la literatura se realizó de agosto a octubre de 2019 y se actualizó en mayo de 2021; dos revisores buscaron y extrajeron los datos (GAR y RTR) de manera independiente, mediante el sistema PRISMA para cribaje de los registros obtenidos.

Selección de los estudios

Dos revisores (GAR, MABH) realizaron la búsqueda y selección de los artículos a incluir; en caso de discordancias se consultó un tercer revisor (LAF). El tamizaje de los registros se realizó con base en el título y el resumen. Dentro de la búsqueda manual se tomaron en cuenta las referencias. Aquellos

Tabla 1
Estrategia de búsqueda de la revisión sistemática.

Elegibilidad	Ensayos clínicos o estudios de casos y controles en idioma inglés o español
Base de datos electrónica	Medline/PubMed, Scholar Google, Clinical Trails y Scopus, Web of science
Pregunta de investigación	¿Cuál es la eficacia del uso de aparatología ortopédica prequirúrgica en el paciente con labio y paladar hendido?
Número de registros encontrados para cada base de datos	Algoritmos utilizados para la estrategia de búsqueda adaptados para cada base de datos.
Pubmed: 441	<p>("Cleft Palate" OR "fissure of the palate" OR "Cleft lip and palate") AND (therapy OR treatment OR therapeutics OR "surgical procedures" OR operative OR "operative surgical procedures" OR "palatal obturator" OR obturator OR "presurgical treatment" OR "nasalveolar moulding" OR "orthopedic protocol" OR "nasal conformer")</p> <p>Filters applied: Clinical Trial, Observational Study, Randomized Controlled Trial.</p>
Scholar Google: 827	<p>("Cleft Palate" OR "Cleft lip and palate") AND ("operative surgical procedures" OR "palatal obturator" OR "presurgical treatment" OR "nasalveolar moulding" OR "orthopedic protocol" OR "nasal conformer")</p> <p>NOT review</p>
Clinical Trials: 4	<p>"operative surgical procedures" OR "palatal obturator" OR "presurgical treatment" OR "nasalveolar moulding" OR "orthopedic protocol" OR "nasal conformer" Studies With Results "Cleft Palate" OR "fissure of the palate" OR "Cleft lip and palate"</p> <p>Applied Filters: With Results</p>
ProQuest: 3,433	<p>("Cleft Palate" OR "fissure of the palate" OR "Cleft lip and palate") AND (therapy OR treatment OR therapeutics OR "surgical procedures" OR operative OR "operative surgical procedures" OR "palatal obturator" OR obturator OR "presurgical treatment" OR "nasalveolar moulding" OR "orthopedic protocol" OR "nasal conformer") NOT review</p>
Web of science: 3,221	<p>#1 TS=("Cleft Palate" OR "fissure of the palate" OR "Cleft lip and palate")</p> <p>#2 TS=(therapy OR treatment OR therapeutics OR "surgical procedures" OR operative OR "operative surgical procedures" OR "palatal obturator" OR "presurgical treatment" OR "nasalveolar moulding" OR "orthopedic protocol" OR "nasal conformer")</p>

textos completos que no cumplían con los criterios de elegibilidad fueron excluidos.

Proceso de recopilación de datos y elementos de datos

El registro de los datos se realizó en una hoja de trabajo Excel estandarizada con los datos relevantes de los estudios incluidos, tales como el diseño del estudio, la población (n), las

desenlaces, los resultados y duración del efecto. Los autores de correspondencia fueron contactados por correo electrónico para obtener datos faltantes o detalles adicionales.

Evaluación de riesgo de sesgo y calidad

Dos revisores (MABH, RTR) evaluaron el riesgo mediante las herramientas RoB 2, ROBINS-1 y Newcastle-Ottawa Scale (NOS)

para los estudios con diseño de ensayo clínico controlado aleatorizado, ensayo clínico no aleatorizado y estudios observacionales respectivamente ⁸. Con la validación interna y externa se determinó la calidad mediante la herramienta GRADEpro GDT, conforme a las recomendaciones del manual de Cochrane ⁹.

RESULTADOS

Se encontraron 7.926 registros en las bases de datos consultadas, de los cuales 4.224 eran duplicados. Se realizó el cribaje de 3.702 registros y posteriormente 105 artículos de texto completo fueron evaluados para su elegibilidad. Finalmente, se realizó la síntesis y análisis de la información de 23 artículos (Fig. 1).

De los 23 artículos incluidos, 11 son de diseño ensayo clínico controlado aleatorizado, 4 corresponden a diseño de ensayo

clínico controlado no aleatorizado y 8 estudios son de diseño de tipo observacional. Las características de los estudios se muestran en la Tabla 2, la síntesis de la evaluación de calidad se presenta en la Tabla 3 y la descripción de los puntos de referencia utilizados en las investigaciones se puede consultar en la Tabla 4.

En la evaluación del riesgo de sesgo se observó que todos los estudios mostraban un riesgo de sesgo entre moderado/poco claro y alto, con defectos en los dominios sesgo de selección, sesgo de realización y sesgos de detección, lo que aunado a elementos de validación externa (imprecisión y evidencia indirecta) resultaron en una calidad de la evidencia entre muy baja y baja (Tabla 3).

Aparato (McNeil)

Se encontraron 2 artículos que determinaban la eficacia del aparato de McNeil

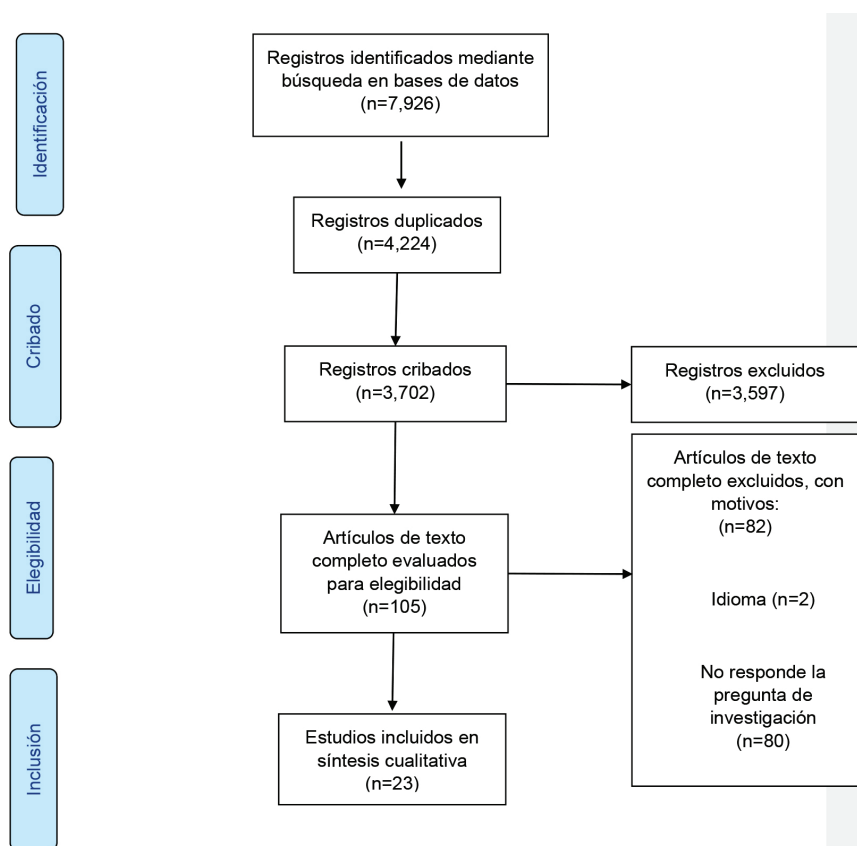


Fig. 1. Diagrama de flujo PRISMA.

Tabla 2
Características de los estudios incluidos.

ID/ Diseño del estudio	Población	Tipo de intervención prequirúrgica	Tipo de intervención quirúrgica	Método de medición o evaluación/seguimiento
McNeil				
Bennun y col. ¹⁰ (1999)	UCLP Total: n=139	Obturador McNeil IA=2-15 días de nacidos	Técnica (Millard II) CXA=3 meses de edad	Medidas lineales sobre modelo de yeso maxilar SN-SN: ancho columelar, SN-CF: longitud del lado de la hendidura columelar, SN-CNF: longitud columelar del lado no fisurado, SN-PRN: protrusión de la punta nasal N-PRN: longitud nasal, AL-AL: ancho de la nariz
Ensayo clínico controlado no aleatorizado.	Grupos: McNeil n=91 GC n=48	TI=Sin datos		T1= primera consulta, T2= 15 días T3= 30 días T4= al tercer mes (postquirugía) T5= al año T6= 6 años
Adali y col. ¹¹ (2012)				
Ensayo clínico controlado no aleatorizado	UCLP Total: n=75 Grupos: McNeil n=14 GC n=61	Obturador McNeil IA=Sin datos TI=Sin datos	Técnica de Millard modificada junto con un colgajo de vómer de una sola capa para cerrar el paladar duro. El cierre del paladar blando tuvo lugar cerca de los 6 meses de edad. CXA=3 meses de edad (queiloplastia)	Medidas lineales sobre modelo de yeso maxilar (descritas en la Tabla 3)
Aparato T-traction				
Karling y col. ¹² (1993)	UCLP Total: n=143	T- Tracción IA=1-3 semanas	CX= Queiloplastia + injerto óseo CXA=6 meses	Grabaciones de audio - Inteligibilidad - Hipernasalidad - Escape nasal - Resoplido velar - Hiponasalidad anterior o posterior - Articulación glotal - Articulación faríngea - Otro problema de articulación causada por el defecto (fricativas nasales, articulación dental con retroposición).
Estudio observacional casos y controles	Grupos: T-traction n=103 GC n=40	TI=3.7 meses	Palatoplastia: retroposicionamiento VY según Veau-Wardill Kilner CXA=13-35 meses	Los parámetros se juzgaron de acuerdo con una escala de 5 puntos donde 0 indica que no hay desviación de lo normal y 4 indica una desviación muy fuerte.

Tabla 2. CONTINUACIÓN.

Aparato de Hotz				
Ross y col. ¹³ (1994)	BCLP Total: n=40	Placa acrílica palatina pasiva	CX=Sin datos CXA=Sin datos	Estética facial - Mucosa labial - Bermellón del labio
Ensayo clínico controlado no aleatorizado	Grupos: Hotz n=20 GC n=20	IA=Sin datos TI=Sin datos		- Nariz en vista frontal - Nariz en vista de perfil - Frontal total
Konst y col. ¹⁴ (1999)	UCLP Total: n=54	Obturador: paladar de Hotz	Técnica Millard CXA=15 semanas	Grabaciones de audio y video. Sistema de clasificación de Koopmans-van Beinum y Van der Stelt 's
Ensayo clínico controlado aleatorizado	Grupos: Hotz n=27 GC n=27	IA=2 semanas		
Konst y col. ¹⁵ (2000)	UCLP Total: n=28	Obturador: paladar de Hotz	Técnica Millard CXA=15 semanas	Grabaciones de audio y video Inteligibilidad: se evaluó mediante dos métodos: un método de anotación y un procedimiento de calificación
Ensayo clínico controlado aleatorizado	Grupos: Hotz n=10 Sin Hotz n=10 Sanos n=8	IA=Sin datos TI=Sin datos		
Prahl y col. ¹⁶ (2001)	UCLP Total:n=49	Obturador: Paladar pasivo	Técnica Millard CXA=18 semanas	Modelos de yeso de la arcada superior Los puntos de referencia se describen en el texto.
Ensayo clínico controlado aleatorizado	Grupos: Hotz n=24 GC n=25	IA=2 semanas		
Bongaarts y col. ¹⁷ (2004)	UCLP Total: n=54	Obturador: paladar de Hotz	Técnica Millard CXA=18 semanas	Modelos de yeso de ambas arcadas - GOSLON: correlación de arcadas. - Korkhaus: over jet over bite. - Clasificación de angle - Huddart and Bodenham
Ensayo clínico controlado aleatorizado	Grupos: Hotz n=27 GC n=27	IA=3-6 meses		
Bongaarts y col. ¹⁸ (2006)	UCLP Total: n=54	Obturador: paladar de Hotz	Técnica Millard CXA=18 semanas	Modelos de yeso de ambas arcadas - Puntos utilizados por Prahl <i>et al.</i>
Ensayo clínico controlado aleatorizado	Grupos: Hotz n=27 GC n=27	IA=3-6 meses		
Prahl y col. ¹⁹ (2006)	UCLP Total: n=41	Obturador: Paladar pasivo	Técnica Millard CXA=18 semanas	Fotografías faciales - Cara completa - Cara recortada
Ensayo clínico controlado aleatorizado	Grupos: Hotz n=20 GC n=21	IA=2 semanas		

Tabla 2. CONTINUACIÓN.

Bongaarts y col. ²⁰ (2008)	UCLP Total: n=54	Obturador: paladar de Hotz	Técnica Millard CXA=18 semanas	Fotografías faciales - Escala visual análoga
Ensayo clínico controlado aleatorizado	Grupos: Hotz n=27 GC n=27	IA=3-6 meses		
Bongaarts y col. ²¹ (2009)	UCLP Total: n=54	Obturador: paladar de Hotz	Técnica Millard CXA=18 semanas	Radiografías laterales de cráneo (las variables están descritas en la Tabla 3)
Ensayo clínico controlado aleatorizado	Grupos: Hotz n=27 GC n=27	IA=3-6 meses		
Novveraz y col. ²² (2015)	UCLP Total: n=54	Obturador: placas pasivas	Técnica Millard CXA= 18 semanas	Modelos de yeso de ambas arcadas Maloclusión a los 9-12 años (Huddart/Bodenham)
Ensayo clínico controlado aleatorizado	Grupos: Hotz n=27 GC n=27	IA= 2 semanas TI=50 semanas		
Jorge y col. ²³ (2016)	UCLP Total: n=47	Obturador: paladar de Hotz	Técnica Millard CXA=3 meses	Modelos digitales del maxilar (valores descritos en la Tabla 3)
Estudio observacional cohorte	Grupos: Hotz n=23 GC n=24	IA= nacimiento a 12-18 meses TI=18 meses		
Aparato NAM				
Barillas y col. ²⁴ (2009)	UCLP Total: n=25	NAM	CX: (reparación de labios extendida tipo Mohler, gingivoperiosteoplastia tipo Millard)	Medidas lineales y angulares sobre modelos de yeso, longitud de proyección del ala nasal, altura de la cúpula de la fosa nasal, desviación columelar, posición superoinferior alar de la ranura, posición mediolateral de la cúpula nasal, desviación del puente nasal.
Estudio observacional casos y controles	Grupos: NAM n=15 GC n=10	IA=1 mes TI=Sin datos	CXA=3-4 meses	
Rubin y col. ²⁵ (2015)	UCLP, BCLP (no hay grupo control para BCLP)	NAM IA=Sin datos TI=Sin datos	Sin datos	Fotografías faciales
Estudio observacional casos y controles	Total: n=20 Grupos: NAM n=10 GC n=10			

Tabla 2. CONTINUACIÓN.

Broder y col. ²⁶ (2016)	UCLP Total: n=110	NAM IA=6 semanas	CX=Sin datos CXA=13 meses	Apariencia facial; cara, nariz y labios; en comparación con los niños sin hendidura; esto a través de fotografías.
Ensayo clínico controlado no aleatorizado	Grupo: NAM n=62 GC n=48	TI=Sin datos		La escala de extensión de la diferencia incluye una escala de cuatro puntos: 0= igual que otros niños (no diferente); 1= un poco diferente (levemente diferente); 2= más que un poco diferente (moderadamente diferente); 3= muy diferente.
Liang y col. ²⁷ (2017)	UCLP Total: n=84	NAM IA=24-61 días	Técnica de avance de rotación modificada de Chang Gung TI=1-3 meses CXA=3-4 meses	Evaluación fotográfica La evaluación de la base bilateral de las alas nasales y simetría de la cúpula nasal y el surco nasolabial, así como la simetría de la cúpula nasal bilateral y fosa nasal, longitud de la columela, y formación de la fosa nasal y el ápice nasal.
Ensayo clínico controlado aleatorizado	Grupos: NAM n=42 GC n=42			Las puntuaciones se asignaron como sigue: 1 punto (pobre) 2 puntos (justo) 3 puntos (promedio) 4 puntos (bueno) 5 puntos (excelente)
Shetty y col. ²⁸ (2017)	UCLP Total: n=120	NAM IA= Grupo1: antes del mes Grupo 2: 1-6 meses Grupo 3: 6-12 meses TI= Grupo1: 6 meses Grupo2: 3 meses Grupo3: 3 meses	Queiloplastía de rotación -avance modificada CXA= Grupo1: 6 meses Grupo2: 6-9 meses Grupo3: 9-15 meses Palatoplastía de retroceso se realizó a los 18 meses de edad	Medidas lineales en modelo de yeso del maxilar - Distancia intersegmentos (ISD) - Ancho intercanino (ICW) - Ancho del arco posterior (PAW) Tiempo de la evaluación: T1: primera visita T2: después de la queiloplastía. T3: a los 6 años

Tabla 2. CONTINUACIÓN.

Kinouchi y col. ²⁹ (2018)	UCLP Total: n=29	NAM IA=6.6 semanas	CX=Sin datos CXA=5.5 semanas	Medición sobre modelo de yeso del maxilar y sobre fotografía, T: punto final de la tuberosidad maxilar (lado afectado). T': punto final de la tuberosidad maxilar (lado no afectado). NP: Punta de la cresta alveolar en segmento mayor. NP': intersección de la línea perpendicular a T-T' a través de NP. CP: Punta de la cresta alveolar en segmento menor. CP': intersección de la línea perpendicular a T-T' a través de CP. T1=visita inicial T2=inmediatamente antes de la queiloplastia T3=después de la queiloplastia.
Estudio observacional casos y controles	Grupos: NAM n=13 GC n=16	TI=11.6 semanas		
Massie y col. ³⁰ (2018)	UCLP Total: n=36	NAM IA=Sin datos TI=Sin datos	CX=Sin datos CXA=Sin datos	Tomografías computarizadas de la región nasal ANS: espina nasal anterior; e: lado hendido; MAX: punto máximo de desviación septal MID: punto medio entre ANS y PNS; nc: lado no hendido; PNS: espina nasal posterior. PPE: placa perpendicular del etmoides. VOM: vomer
Estudio observacional casos y controles	Grupos: NAM n=19 GC n=17			
Akarsu-Guven y col. ³¹ (2018)	UCLP Total: n=46	NAM IA=1-2 semanas	CX=GPP CXA=Sin datos	Cefalogramas laterales, basado en medidas de SNA, SNB, ANB, FMA, SN-PP, profundidad del maxilar, altura maxilar
Estudio observacional casos y controles	Grupos: NAM n=26 GC n=20	TI=3-4 meses		
Bonanthaya y col. ³² (2019)	BCLP Total: n=121	Obturador: NAM IA=7 semanas TI=4-5 meses	Técnica Millard modificada CXA= +12meses	Fotografías faciales - Estética nasolabial: ancho del prolabium, arco de cupido, simetría del bermellón, muescas del bermellón, apariencia premaxilar, decoloración, marcas de sutura/extensión de la cicatriz, hipertrofia, altura de la columna, simetría de las fosas nasales, ancho bialar, punta nasal.
Estudio observacional casos y controles	Grupos: NAM n=59 GC n=62			

Labio paladar hendido unilateral (UCLP), Labio paladar hendido bilateral (BCLP), grupo control (GC), no especificado (NS), nasopalveolar molding (NAM), gingiviperiosteoplastia (GPP), edad de inicio de tratamiento ortopédico (IA), tiempo de uso de la aparatología ortopédica (TI), tipo de cirugía (CX), edad a la que se realizó la cirugía (CXA).

Tabla 3. Evaluación de calidad.

Identificación	Impacto	Calidad de la evidencia (GRADE)
McNeil		
Bennun y col. ¹⁰ (1999)	Al evaluar a los 6 años de edad, el ancho columelar, la longitud del lado de la hendidura columelar, la longitud columelar del lado no fisurado, la protrusión de la punta nasal, la longitud nasal, y el ancho de la nariz, se observaron mejores efectos a favor de el uso del McNeil en niños.	⊕○○○ ^{a,e,d} Muy bajo
Adali y col. ¹¹ (2012)	Al evaluar el ancho del arco anterior, la posición posterior del segmento mayor, la altura palatina posterior y la pendiente palatina del segmento mayor se observaron efectos a favor del uso del McNeil.	⊕⊕○○ ^{a,e,d} Bajo
Aparato T-traction		
Karling y col. ¹² (1993)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕○○○ ^{a,e,d} Muy bajo
Aparato de Hotz		
Ross y col. ¹³ (1994)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕○○○ ^{a,d} Muy bajo
Konst y col. ¹⁴ (1999)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕⊕○○ ^{a,d} Bajo
Konst y col. ¹⁵ (2000)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕○○○ ^{a,e,d} Muy bajo
Prahl y col. ¹⁶ (2001)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕⊕○○ ^{a,e,d} Muy bajo
Bongaarts y col. ¹⁷ (2004)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕⊕○○ ^{a,d} Bajo
Bongaarts y col. ¹⁸ (2006)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕⊕○○ ^{a,d} Bajo
Prahl y col. ¹⁹ (2006)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕○○○ ^{a,e,d} Muy bajo
Bongaarts y col. ²⁰ (2008)	Al realizar la evaluación visual por el profesional se refirió mejoría en el grupo que fue tratado con el obturador paladar de Hotz.	⊕⊕○○ ^{a,d} Bajo
Bongaarts y col. ²¹ (2009)	Al evaluar el ángulo mentolabial e interincisal, Se encontraron diferencias a favor del uso del Paladar de Hotz.	⊕⊕○○ ^{a,d} Bajo
Noverraz y col. ²² (2015)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕⊕○○ ^{a,d} Bajo
Jorge y col. ²³ (2016)	AL evaluar la distancia intercanina, se encontraron diferencias a favor del obturador paladar de Hotz.	⊕○○○ ^{a,d} Muy bajo

Tabla 3. CONTINUACIÓN

Identificación	Impacto	Calidad de la evidencia (GRADE)
Aparato NAM		
Barillas y col. ²⁴ (2009)	Al realizar la evaluación nasal, se reportaron efectos a favor del uso del NAM.	⊕○○○ ^{a,c,d} Muy bajo
Rubin y col. ²⁵ (2015)	Se reportaron efectos a favor del uso del NAM en la evaluación facial.	⊕○○○ ^{a,c} Muy bajo
Broder y col. ²⁶ (2016)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕○○○ ^{a,c} Muy bajo
Liang y col. ²⁷ (2017)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕⊕○○ ^{a,c} Bajo
Shetty y col. ²⁸ (2017)	Al evaluar el ancho intercanino a los 6 años, se reportaron efectos a favor del uso del NAM.	⊕○○○ ^{a,c,d} Muy bajo
Kinouchi y col. ²⁹ (2018)	Al evaluar asimetría nasal y desplazamiento columelar, se encontraron efectos a favor del uso del NAM.	⊕○○○ ^{a,c,d} Muy bajo
Massie y col. ³⁰ (2018)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕○○○ ^{a,d} Muy bajo
Akarsu-Guven y col. ³¹ (2018)	No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.	⊕○○○ ^{a,c,d} Muy bajo
Bonanthaya y col. ³² (2019)	En la evaluación facial, se reportaron efectos a favor del uso del NAM.	⊕○○○ ^{a,c} Muy bajo

a) Riesgo de sesgo, b) Inconsistencias, c) Evidencia indirecta, d) Imprecisión, d) Otras consideraciones (sesgo de publicación, Factores de confusión, gradiente dosis respuesta).

Tabla 4
Parámetros evaluados en los estudios incluidos.

Bennun y col.	Marcadores faciales
Marcador	Significado
SN-SN	Ancho columelar.
SN-CF	Longitud del lado de la hendidura columelar.
SN-CNF	Longitud columelar del lado no fisurado.
SN-PRN	Protrusión de la punta nasal.
N-PRN	Longitud nasal.
AL-AL	Ancho de la nariz.
Prahl y col.	Marcadores en modelos
Marcador	Significado
T, T´	Puntos de tuberosidad, en la unión de la cresta de la cresta con el contorno de la tuberosidad.
t, t´	Márgenes de la hendidura posterior a nivel de los puntos de tuberosidad.
C, C´	Puntos caninos, donde un surco lateral cruza la cresta de la cresta alveolar (corresponde a la parte superior de la papila interdental entre canino y primer molar deciduo).

Tabla 4. CONTINUACIÓN

Q, Q'	Puntos del surco gingival, en la intersección del surco gingival y el surco lateral en el lado palatino.
I	Punto incisal, donde una línea que conecta la papila incisal y el frenillo labial cruza la cresta de la cresta alveolar (corresponde a la parte superior de la papila interdental entre los incisivos centrales).
L'	Margen del segmento menor, donde la continuación de una línea que marca la cresta de la cresta gira desde el lado oral hacia el lado nasal en el extremo anterior del segmento.
P'	Lo mismo que para L' para el segmento premaxilar.
12	Intersección del margen de la hendidura en el lado de la hendidura y una línea que conecta los puntos C' y Q'.
13	Intersección del margen de la hendidura en el lado no hendido y una línea que conecta los puntos C y Q.
M	Punto virtual cuyas coordenadas son calculadas por el ordenador que representa el punto medio de la línea T,T'.
P'L'	Ancho de la hendidura alveolar, distancia entre el punto P' y L'.
CC'	Distancia entre puntos intercaninos, distancia entre el punto C y C'.
TT'	Distancia del punto de intertuberosidad, distancia entre el punto T y T'.
I / CC'	Profundidad del arco anterior, perpendicular desde el punto I a la línea CC'.
<TMI	Ángulo entre los puntos T, M e I.
<MTC	Ángulo entre los puntos M, T y C.
<MT' C'	Ángulo entre los puntos M, T' y C'.
<13QQ'	Ángulo entre el punto 13, Q y Q'.
<12Q'Q	Ángulo entre el punto 12, Q' y Q.
I / TT'	Profundidad total del arco, perpendicular desde el punto I a la línea TT'.
1213	Ancho de la hendidura palatina media, distancia entre el punto 12 y 13.
tt'	Ancho de la hendidura posterior, distancia entre el punto t y t'.

Tabla 4. CONTINUACIÓN

Índice de GOSLON		
Índice oclusal Grupo	Características oclusales	Pronóstico de los resultados a largo plazo
1	<ul style="list-style-type: none"> • Resalte horizontal (+) con inclinación normal o retroinclinación de los incisivos. • Ausencia de mordidas cruzadas y ausencia de mordidas abiertas. • Buena morfología del arco dentario superior y buena anatomía del paladar. 	Excelente

Tabla 4. CONTINUACIÓN

Índice de GOSLON		
Índice oclusal Grupo	Características oclusales	Pronóstico de los resultados a largo plazo
2	<ul style="list-style-type: none"> • Resalte horizontal (+) con inclinación normal o incisivos vestibularizados. • Mordida cruzada unilateral/tendencia a mordida cruzada. • Tendencia a mordida abierta adyacente a la fisura. 	Bueno
3	<ul style="list-style-type: none"> • Relación de borde a borde anterior con inclinación de incisivos normal o vestibularizados o resalte horizontal (-) con los incisivos retroinclinados. • Tendencia a mordida abierta adyacente a la fisura. 	Regular
4	<ul style="list-style-type: none"> • Resalte horizonte (-) con inclinación de los incisivos normal o vestibularizados. • Tendencia a mordida cruzada unilateral/bilateral. • Tendencia a mordida abierta en el área de la fisura. 	Malo
5	<ul style="list-style-type: none"> • Resalte horizontal (-) con los incisivos vestibularizados. • Mala morfología del arco dentario superior y mordida cruzada bilateral, mala anatomía del paladar. 	Pésimo
Bongaarts y col. Índice de GOSLON modificado (índice de 5 años)		
1	<ul style="list-style-type: none"> -Sobremordida horizontal positiva (normal o ampliada) con inclinación media o incisivos retroinclinados. -Sin mordida cruzada / tendencia a mordida cruzada de 1 ó 2 dientes en el segmento más pequeño. -No hay mordidas abiertas ni escalones verticales alrededor del sitio de la hendidura. -Buena forma del arco maxilar y anatomía de la bóveda palatina. 	Excelente
2	<ul style="list-style-type: none"> -Sobremordida horizontal positiva con incisivos medios inclinados o inclinados. -Tendencia unilateral de mordida cruzada / mordida cruzada de todo el segmento más pequeño. -Tendencia a mordida abierta alrededor del sitio de la hendidura. -Borde a borde en el frente sin mordidas cruzadas en los segmentos laterales. 	Bueno
3	<ul style="list-style-type: none"> -Mordida de borde a borde con incisivos inclinados o inclinados promedio. -Sobremordida horizontal invertida con incisivos retroinclinados. -Mordida cruzada unilateral. -Tendencia a mordida abierta alrededor del sitio de la hendidura. 	Regular
4	<ul style="list-style-type: none"> -Sobremordida horizontal invertida con incisivos inclinados o inclinados promedio. -Mordida cruzada unilateral / tendencia a mordida cruzada bilateral. -Tendencia a mordida abierta alrededor del sitio de la hendidura. 	Malo
5	<ul style="list-style-type: none"> -Sobremordida horizontal invertida con incisivos inclinados. -Mordida cruzada bilateral. -Forma del arco maxilar y anatomía de la bóveda palatina deficientes. 	Pésimo

Tabla 4. CONTINUACIÓN

Bongaarts y col.	Sistema de puntuación de oclusión sagital (Angle)	
Puntaje	Significado	
+4	1 premolar a lo ancho	Clase II
+3	$\frac{3}{4}$ de premolar	Clase II
+2	$\frac{1}{2}$ de premolar	Clase II
+1	$\frac{1}{4}$ de premolar	Clase II
0		Clase I
-1	$\frac{1}{4}$ de premolar	Clase III
-2	$\frac{1}{2}$ de premolar	Clase III
-3	$\frac{3}{4}$ de premolar	Clase III
-4	1 premolar a lo ancho	Clase III
	Cada diferencia de puntos corresponde con una cuarta diferencia de ancho de premolar en la oclusión	
Bongaarts y col.	Marcadores cefalométricos	
SNA	Posición anteroposterior del punto A en relación con la base craneal.	
SNB	Posición anteroposterior del punto B en relación con la base craneal.	
ANB	La posición relativa de los puntos A y B entre sí.	
Ángulo mentolabial (Pr-Ls e ID-Li)	Profundidad del pliegue mentolabial.	
(PRN-N'-Sn)	Espesor en mm, del labio superior e inferior.	
(G-Sn-Pg')	Protuberancia de la nariz.	
(G-Sn-Pg')	Convexidad de tejido blando.	
Ángulo nasolabial (PRN-Sn-Ls)	Protuberancia del labio superior con respecto a la línea de la columela.	
	Labio superior e inferior al plano E: Equilibrio de tejido blando entre labio y la línea E en mm, saliente del labio superior e inferior: saliente del labio en relación con Sn-Pg' en mm.	
ángulo interincisal	inclinación de los incisivos superiores e inferiores entre sí.	
Incisivo inferior ángulo	(Li- Go-Me): inclinación del incisivo inferior con respecto al plano mandibular.	
incisivo superior e inferior a A-Pg	Posición de los incisivos a A-Pg en mm.	
incisivo superior ángulo	(1s- ANS-PNS): inclinación del incisivo superior con respecto al plano palatino.	
ángulo N-ANS-Pg	Convexidad de la cara según Harvold.	
Índice de altura facial	La relación entre la altura de la facial posterior en relación con la altura de la facial anterior (%).	
índice ANS-PNS / Go-Me	La relación entre la longitud maxilar y la longitud mandibular (%).	
ANS-PNS	Distancia de ANS a PNS en mm.	
Índice ANS-Me / N-Me	La relación entre la altura de la cara anterior inferior en relación con la altura total de la cara anterior (%).	

Tabla 4. CONTINUACIÓN

ANS-Me	Distancia de ANS a Me.
SN-Go-Me	Inclinación del plano mandibular con respecto a la base del cráneo.
Plano oclusal -SN	Inclinación del plano oclusal con respecto a la base del cráneo.
ANS-PNS -SN	Inclinación del plano palatino con respecto a la base del cráneo.
Adali y col.	Marcadores en los modelos
(A, A1)	Margen de la hendidura alveolar: punto medio de la cresta del proceso alveolar a medida que gira en dirección nasal en el margen de la hendidura en el segmento mayor o menor.
(B)	Punto incisal: intersección de la línea que une el frenillo medial con la papila incisiva y la cresta del punto de la cresta alveolar entre los incisivos centrales deciduos en desarrollo.
(C, C1)	Punto canino: La intersección del surco del surco lateral y la cresta del reborde alveolar en el segmento mayor o menor corresponde al punto entre el canino deciduo y el primer molar deciduo.
(D, D1)	Surco gingival: punto Intersección del surco gingival y el surco lateral, a medida que se extiende hacia la superficie palatina en el segmento mayor o menor.
(E, E1)	Postgingival: (punto de tuberosidad) La unión de la cresta de la cresta alveolar en el segmento mayor o menor y el contorno de la tuberosidad.
(F, F1)	Margen medio de la hendidura: intersección de una línea que conecta los puntos caninos con los puntos del surco gingival y el margen medio de la hendidura en el segmento mayor o menor.
(G, G1)	Margen hendido posterior: Intersección de una línea que une los puntos de tuberosidad y el margen hendido posterior en el segmento mayor y menor.
Jorge y col.	Marcadores en los modelos
(C-C´)	La distancia intercanina entre los surcos laterales derecho e izquierdo de la cresta de la cresta alveolar.
(TT´)	La distancia de intertuberosidad.
(I-i)	La distancia del arco anteroposterior, desde el punto interincisal proyectado hacia una línea que cruza la cresta de la cresta alveolar hasta un punto proyectado hacia TT´.
(P-y)	La distancia de hendidura anteroposterior, desde la proyección P hasta un punto proyectado hacia TT´.
(P-P´)	El ancho de la hendidura anterior, la distancia entre los bordes de la hendidura anterior derecho e izquierdo.
(U-U´)	El ancho de la hendidura posterior, la distancia entre los bordes de la hendidura posterior derecho e izquierdo, en el punto de máxima separación.
Kinouchi y col.	Marcadores en modelos
T	Punto final de la tuberosidad maxilar (lado afectado).
T´	Punto final de la tuberosidad maxilar (lado no afectado).
NP	Punta de la cresta alveolar en segmento mayor
NP´	Intersección de la línea perpendicular a TT´ a través de NP.

Tabla 4. CONTINUACIÓN

CP	Punta de la cresta alveolar en segmento menor.
CP´	Intersección de la línea perpendicular a TT´ a través de CP.
Kinouchi y col.	Marcadores faciales
LINEA 1	Línea intercantal como línea de referencia.
LINEA 2	Paralela a la línea 1ª E como eje x.
LINEA 3	Bisección de la línea 2 a través del centro E-E´.
LINEA 4	Conecta E y el lado afectado de la base alar.
N1	Contorno nasal externo del lado no afectado.
N1´	Forma de línea invertida N1 y superpuesta a la línea 2.
N2	Contorno nasal externo del lado afectado.
N2´	Línea de forma invertida N2 y superpuesta a la línea 2.
S	Área rodeada en N2, N2´ y línea 2.
S´	Área rodeada en N1 y N2 o N1´ y N2.
H	Intersección con la línea 3 y los contornos nasales externos.
H´	Intersección con la línea 2 y la línea perpendicular desde el punto H.
E	Punto basal del lado no afectado de la base alar.
E´	Punto de cruce de la línea 2 y N2.
Akarsu-Guven y col.	Marcadores cefalométricos
S-N	Largo de la base craneal anterior.
SNA	Posición anteroposterior del maxilar con respecto a la base craneal anterior.
Profundidad maxilar	Medida angular desde el plano horizontal de Frankfort al plano de N-A.
A - Nperp	Distancia entre nasion perpendicular y punto A.
SN-PP	Ángulo del plano palatino respecto a la base de cráneo.
Altura maxilar	Posición vertical del maxilar.
SNB	Posición anteroposterior de la mandíbula en relación con base craneal anterior.
ANB	Posición relativa entre maxilar y mandíbula.
FMA	Medida angular entre plano de Frankfort y el plano mandibular.
Na-Me	Altura facial anterior total.
ANS-Me	Altura facial anterior inferior.
Na-ASN	Altura facial anterior superior.
Shetty y col.	Marcadores en modelos
Distancia intersegmentos (ISD)	Medida entre la tangente a la curvatura más medial en el centro de las crestas
Ancho intercanino (ICW)	Distancia entre los surcos caninos o el surco lateral puntos (el punto en el que el surco lateral cruza la cresta de la cresta alveolar)
Ancho del arco posterior (PAW)	Distancia entre los puntos retromolares (límite posterior de tuberosidad)

en la AOP en pacientes con UCLP que cumplían los criterios de inclusión. Bennun y col.¹⁰ cuantificaron seis medidas de superficie para comparar las tasas de crecimiento de la región nasal. La dirección de la intervención fue a favor del Grupo I, con base a las medidas SN-PRN, CN-CF, SN-SN, las cuales son importantes debido a su influencia durante el crecimiento para el adecuado desarrollo nasal. Posteriormente, Adali y col.¹¹ evaluaron las diferencias de la forma y dimensiones de la arcada en pacientes con UCLP. El grupo reportó una dirección del efecto a favor del uso del modelador en el ancho del arco anterior, la posición posterior del segmento mayor, la altura palatina posterior y en la vertiente palatina del segmento Mayor.

Aparato (T-Traction)

Se encontró estudio que cumplía los criterios de inclusión, Karling y col.¹² analizaron, mediante grabaciones de audio, pacientes diagnosticados con UCLP y BCLP. En el mismo, se estudiaron diferentes parámetros que se evaluaron de acuerdo a una escala de 5 puntos, donde 0 indica que no hay desviación de lo normal y 4 indica una desviación muy fuerte. El grupo de investigación no encontró diferencias significativas entre grupos.

Aparato (Paladar de Hotz)

Se encontraron 11 artículos que cumplían los criterios de inclusión. Ross y col.¹³ evaluaron la estética facial mediante la toma de fotografías de frente y de perfil y se registraron puntuaciones para mucosa labial, bermellón del labio, nariz en vista frontal, nariz en vista de perfil y vista frontal total. Se utilizó una escala estética de 0 (menor) a 10 (mayor). No hubo diferencias significativas entre grupos.

Konst y col.¹⁴ evaluaron el desarrollo del habla mediante grabaciones de audio y video a los 12 y 18 meses de edad; para ello se usó el sistema de clasificación de Koopmans-van Beinum y Van der Stelt's, el cual se basa en la producción del habla del bebé y sus ca-

pacidades cambiantes durante el desarrollo. No hubo diferencias significativas entre grupos. Posteriormente el mismo grupo, Konst y col.¹⁵ determinaron la inteligibilidad con grabaciones audiovisuales de los participantes a una edad de 2,5 años, en las que se evaluaron las habilidades de lenguaje receptivo medidas con una prueba estandarizada (Escala del lenguaje del desarrollo de Reynell, versión holandesa). La inteligibilidad del habla se evaluó mediante un método de anotación y un procedimiento de calificación. No se mostraron diferencias significativas entre grupos.

Prahl y col.¹⁶ evaluaron los efectos de la AOP en la dimensión maxilar. Esta medición se realizó en modelos de yeso tomados a 5 edades diferentes (dentro de las 2 semanas de nacimiento, a 15 semanas de edad, a las 24 semanas que corresponden a 6 semanas después de la reparación del labio, a las 48 semanas de edad que corresponde a 4 semanas antes del cierre del paladar blando y, finalmente, a las 78 semanas). Los puntos de referencia están descritos en la Tabla 3. No se encontraron diferencias significativas entre grupos al final de seguimiento (78 semanas de edad).

Bongaarts y col.¹⁷ evaluaron la oclusión de la dentición decidua en niños de 4 y 6 años. La relación de las arcadas dentarias se determinó mediante el índice GOSLON modificada para pacientes de 5 años; se cuantificaron el over jet, el over bite y el parámetro de Korkhaus, se determinó la oclusión sagital con la clasificación de Angle y la mordida cruzada con la escala de Huddart – Bodenheim. No se encontraron diferencias significativas entre grupos. Posteriormente Bongaarts y col.¹⁸ evaluaron el efecto de la AOP sobre la dimensión de la arcada maxilar en la dentición decidua, utilizando los puntos de Prahl¹⁶. No se encontraron diferencias significativas entre grupos.

Prahl y col.¹⁹ evaluaron la apariencia facial en pacientes con uso de AOP (paladar de Hotz) mediante fotografías faciales tomadas a los 18 meses de edad. El método de Peer-

lings fue utilizado para calificar la apariencia facial. No hubo diferencias significativas entre grupos en la mayoría de las determinaciones; sin embargo, en los puntajes de referencia se logró obtener un valor con significancia estadística.

Bongaarts y col.²⁰ evaluaron la apariencia facial en pacientes con UCLP con una edad de 4 a 6 años, tratados o no, con AOP. Este análisis fue realizado con la toma de fotografías faciales de los pacientes y se evaluó la apariencia promedio de labio leporino y paladar hendido, por el atractivo del rostro mediante un valor expresado como una línea de longitud definida tipo EVA. Una línea más corta significaba un rostro menos atractivo que la imagen de referencia, mientras que una línea más larga significaba un rostro más atractivo. De los 26 observadores, 16 eran profesionales (médicos, otorrinolaringólogos, cirujano, ortodoncista) y 10, personal ajeno al área de la salud. Los pacientes se distribuyeron, intervinieron y evaluaron como en estudios previos del equipo de investigación¹⁹. La dirección de los desenlaces fue a favor GI, a la edad de 4 años; la evaluación a los 6 años sólo los profesionales ven cambios a favor de GI en la zona nasolabial.

Bongaarts y col.²¹ evaluaron variables dentales y cefalométricas en pacientes con UCLP de 4 a 6 años. Los pacientes se distribuyeron, intervinieron y evaluaron como en estudios previos del equipo de investigación¹⁹. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.

Noverraz y col.²² evaluaron a largo plazo la relación transversal de arcada dentaria en pacientes que usaron AOP (Paladar de Hotz). Se evaluaron modelos tomados en dos etapas; la primera, a los 9 años y, la segunda, a los 12 años de edad; se usó el sistema de puntuación Huddart/Bodenham modificada. No hubo diferencia estadística significativa en el desarrollo transversal de las arcadas a la edad de 9 y 12 años en pacientes que usaron la ortopedia infantil y los que no.

Jorge y col.²³ evaluaron las alteraciones dimensionales de los dientes maxilares

después de la reparación del labio con dos diferentes protocolos. Se realizaron modelos digitales del maxilar en dos etapas del tratamiento: etapa 1, antes de la cirugía reparación de labios, y la etapa 2, aproximadamente a 1 año de edad. Los investigadores conformaron los siguientes grupos: GI, sujetos que desde su nacimiento hasta los 12-18 meses se les colocó AOP (Paladar de Hotz), posteriormente la reparación quirúrgica del labio a los 6 meses de edad, usando la técnica Millard modificada; y GII, sujetos que sólo fueron sometidos a reparación del labio a los 3 meses de edad, con la técnica Millard modificada. En la primera etapa de evaluación, solamente la variable C-C' tuvo diferencia significativa; en la segunda etapa de evaluación, el 50% de las variables fueron significativas a favor del AOP (P-P', P-y, C-C').

Aparato (NAM)

Se encontraron 9 artículos que evaluaban el uso de AOP con NAM. Barillas y col.²⁴ evaluaron la simetría a largo plazo a través de mediciones en modelos nasales tomadas en una edad entre 7 y 11 años. Se obtuvieron seis medidas antropomórficas para cada modelo, las mediciones se basaron en las relaciones lineales y angulares desde las perspectivas basilar y frontal, siendo estas, la longitud de proyección del ala nasal, la altura de la cúpula de la fosa nasal, la desviación columelar, la posición del surco alar superoinferior, la posición de la cúpula nasal mediolateral y la desviación del puente nasal. La dirección del efecto en los desenlaces fue a favor del NAM, a excepción de la desviación lateral de la columna en donde se encontraron diferencias entre grupos. Por otro lado, Rubin y col.²⁵ evaluaron la deformidad del paladar y la predicción de las variables quirúrgicas. Se encontraron diferencias significativas a favor del uso del AOP.

Broder y col.²⁶ evaluaron la apariencia facial mediante fotografías faciales (frontal, perfil derecho e izquierdo, y basal) antes del tratamiento y después de la cirugía (aproximadamente a los 13 meses de edad). Las

fotografías fueron evaluadas mediante la escala de gravedad modificada desarrollada por Kuijpers-Jagtman, No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio. Por otro lado, Liang y col.²⁷ evaluaron la simetría nasal a largo plazo mediante la toma de fotografías submentales y rostro completo. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.

Shetty y col.²⁸ evaluaron el efecto del AOP por mediciones lineales en modelos maxilares (Tabla 3). Después de la queiloplastia se encontraron diferencias significativas a favor del uso de AOP en la variable distancia intersegmentos. Por otro lado, en la evaluación realizada 6 años después de la cirugía, la variable ancha intercanino mostró diferencias significativas a favor del AOP, no se reportaron diferencias en el resto de las variables cuantificadas.

Kinouchi y col.²⁹ analizaron en fotografías oblicuas submentales la asimetría de la nariz, el ángulo columelar, la proporción punta nasal / ala de la nariz, y el ángulo de la base nasal. Por otro lado, se evaluaron diversos puntos y trazos complejos (Tabla 3). Se reportaron diferencias significativas a favor del AOP ya que resultó en un preoperatorio con notables mejorías en simetría de la nariz, ángulo columelar, proyección nasal y un mejor cierre de la fisura palatina además también se encontraron efectos a favor de la simetría nasal después de la cirugía.

Massie y col.³⁰ evaluaron la arquitectura de la vía aérea nasal. Mediante la tomografía computarizada de haz-cónico (CBCT, Cone-Beam computerized tomography), en una etapa de dentición mixta, usando un software de imagen Dolphin, orientados en las tres dimensiones del espacio fueron evaluadas secciones coronales del septum cartilaginoso (espina nasal anterior), septum óseo (espina nasal posterior), punto intermedio entre ANS-PNS y el punto máximo de desviación septal. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.

Akarsu-Guven y col.³¹ evaluaron el desarrollo esquelético de los pacientes opera-

dos a los 5 años de edad. Para este objetivo se utilizaron radiografías laterales de cráneo, donde se basaron en 7 medidas principalmente, SNA, SNB, ANB, FMA, SN-PP, profundidad del maxilar, altura maxilar. No se reportaron diferencias significativas entre los grupos de estudio.

Bonanthaya y col.³² evaluaron la estética nasolabial. Este análisis se realizó en fotografías que se tomaron 6 meses después de la queiloplastia, con una escala de subunidades anatómicas que incluyeron el ancho del prolabio, arco de Cupido, simetría bermellón, muesca en el bermellón, apariencia premaxilar, decoloración, marcas de sutura/ extensión de la cicatriz, hipertrofia, altura de la columela, simetría de las fosas nasales, ancho bialar y la proyección de la punta nasal. Se reportaron diferencias significativas a favor del AOP, excepto en las variables, ancho de prolabium, hipertrofia, simetría de las fosas nasales y proyección de la punta nasal, en las cuales no hubo diferencia.

DISCUSIÓN

El tratamiento temprano (ortodoncia interceptiva), se refiere al manejo de la oclusión y el patrón esquelético del paciente antes que se complete la erupción de la dentición permanente. El objetivo de este tipo de procedimiento es corregir las maloclusiones y cambiar los patrones de crecimiento esquelético inadecuados que impiden el desarrollo normal. Corrigiendo estas anomalías, el paciente modifica sus patrones de desarrollo durante las etapas posteriores del complejo cráneo-facial. Las ventajas del tratamiento temprano a través del control de los vectores de crecimiento pueden mejorar la apariencia facial³³. Por otro lado, la ortopedia maxilar temprana genera estímulos funcionales en la actividad muscular de la lengua, labios y todos los músculos masticatorios y faciales que se transmiten a los huesos del complejo maxilar³⁴.

En los años 50s en Europa y EU, tomó importancia la teoría de Kerr McNeil, quien

propuso el uso de AOP neonatal y sugirió que los segmentos del paladar debridados hacia abajo y adelante en el momento de la cirugía, privaban al septum nasal de su potencial de crecimiento, dificultando el mismo y produciendo un tercio medio facial deprimido. Su teoría postulaba que el uso del aparato reduciría la distorsión nasal, llevando los segmentos palatinos a una posición más adecuada. Hipotetizó la posibilidad de modelar los procesos alveolares durante los picos de crecimiento de la primera infancia, en lugar de esperar hasta la pubertad, argumentando que se debían alinear activamente los segmentos para facilitar la cirugía^{35,36}. Esta placa tiene zonas de estimulación que presionan levemente la mucosa palatina a una distancia corta de los márgenes de la fisura. Con esta intervención, McNeil asumió que la fisura se iría colapsando³⁷. En la presente revisión sistemática se encontró que Bennun y col.¹⁰ y Adali y col.¹¹ evaluaron el uso la aparatología prequirúrgica McNeil. Bennun y col.¹⁰ analizaron el desarrollo nasal en términos de apariencia con dirección del efecto en favor del uso de AOP. En contraste con los resultados de Adali y col.¹¹ que del total de sus variables solo el 25% tuvieron efecto a favor de la intervención.

Durante los 60s, Nordin describió el aparato T-traction como un AOP que combina tanto expansión como presión aplicadas a la par de un injerto óseo alveolar temprano. La teoría de Nordin sostenía que, al rotar el segmento maxilar más grande a una posición más normal antes de realizar la intervención primaria, esto tendría como resultado que, la punta de la nariz se dirigiera a la línea media, disminuyendo la tensión en el cartílago alar del lado de la hendidura. En consecuencia, la nariz se endereza y el arco maxilar es más simétrico y, por lo tanto, el tamaño de la hendidura se reduce. La rotación con el T-traction se realiza con un dispositivo en forma de T, el cual se coloca en la fosa nasal del lado no hendido y se fija con unas bandas elásticas. Dichas bandas aplican una fuerza transversal a lo largo de la base

del tabique nasal hacia el lado de la hendidura³⁸. Solamente Karling, y col.¹² evaluaron el efecto de T-Traction sobre la inteligibilidad del habla en estos pacientes y encontraron que esta aparatología no fue útil para este desenlace.

En 1979, Hotz describió una forma de tratamiento ortopédico infantil prequirúrgico denominado enfoque de Zurich, el cual consiste en que el paciente utilice un paladar extraíble. Este dispositivo se usa hasta que el paladar blando se cierra quirúrgicamente y está destinado a orientar tanto el crecimiento como la posición de los segmentos maxilares con el objetivo de mejorar la alimentación y la postura de la lengua¹⁴. Este aparato está hecho de acrílico suave y rígido que cubre toda la hendidura, incluida la cresta alveolar y el paladar blando^{15,17}. El propósito de esta AOP es minimizar la deficiencia del crecimiento y desarrollo de los procesos maxilares. La alineación de los segmentos maxilares se consigue mediante el desgaste selectivo del acrílico en áreas específicas con la intención de direccionar el crecimiento³⁹. Hotz postuló que lo ideal era dejar la reparación del paladar duro hasta una edad en la cual el paciente haya alcanzado el crecimiento completo en sentido anteroposterior y transversal de la arcada superior, así como la erupción de todos los órganos dentarios⁴⁰. En la presente revisión, en los desenlaces reportados en pacientes con UCLP que usaron paladar de Hotz se observó que no existe un efecto a favor del uso de esta AOP en la estética facial^{19,20}. Sin embargo, su método de evaluación fue una escala visual análoga, la cual es muy subjetiva. Por otro lado, Konst y col. evaluaron la fonación^{14,15} y reportaron que el uso del Paladar de Hotz no tuvo efecto positivo sobre este desenlace. Además, Prahl y col.¹⁶, Bongaarts y col.¹⁸ y Jorge y col.²³ evaluaron el desarrollo transversal y el cierre del maxilar a diferentes puntos; Prahl y col.¹⁶, reportaron desenlaces sin diferencias significativas entre grupos mientras que Bongaarts y col.¹⁸, reportaron muchos datos perdidos

y en su gran mayoría son resultados sin diferencias significativas entre grupos; y, Jorge y col.²³, reportaron en su primer etapa de medición los desenlaces que la mayoría fueron sin efecto, sin embargo, en su segunda etapa reportaron en el 50% de sus variables de desenlace a favor de la intervención. Cabe destacar que, las edades entre los grupos de los participantes al momento del cierre quirúrgico fueron diferentes, en los que se utilizó el Paladar de Hotz se realizó el cierre a los 6 meses y los que no utilizaron este AOP a los 3 meses de edad. Esto causa un sesgo en sus resultados ya que, se ha reportado que los sujetos que se someten a una intervención quirúrgica a una edad temprana no alcanzan un buen desarrollo maxilar transversal⁴¹. Por otro lado, Prahl y col.¹⁶ y Bongaarts y col.¹⁸ determinaron las mismas variables mientras que Jorge y col.²³ utilizó unas variables más simplificadas en modelos digitalizados que tienen menor margen de error en comparación con los modelos de yeso.

Bongaarts y col.¹⁷ y Noverraz y col.²² analizaron la oclusión en pacientes con UCLP, a los cuales se les aplicó Paladar de Hotz, en ambos estudios se evaluaron diferentes variables y se reportó que no existen diferencias significativas entre grupos. Por otro lado, solamente se encontró un artículo que incluyó pacientes con BCLP tratados con esta AOP. Ross y col.¹³ analizaron la estética facial de los pacientes que llevaron o no el Paladar de Hotz, reportando que no se encuentran diferencias significativas entre grupos. Cabe destacar que, Bongaarts y col. estudiaron un único grupo de pacientes reportando en diferentes artículos diversas variables (oclusión¹⁷, desarrollo del maxilar¹⁸, estética facial²⁰ y análisis cefalométrico²¹) por lo que se consideraron resultados duplicados.

La evidencia revisada demostró que el Paladar de Hotz no es más eficiente que la cirugía sin AOP, al no contar con los requerimientos necesarios para funcionar como aparato ortopédico en términos de la magnitud de la fuerza que genera sobre el tejido

óseo. Las fuerzas ortopédicas se consideran como una fuerza de mayor magnitud que una fuerza ortodóncica. Los aparatos ortopédicos craneofaciales deben aplicar una fuerza mecánica a macroescala produciendo una tensión en la microestructura del hueso sutural y esto origina una respuesta celular de crecimiento en dirección de la fuerza aplicada⁴². Estas fuerzas mecánicas utilizadas en la ortopedia craneofacial deben tener una duración de 12 a 16 horas al día como mínimo y ser mayores a 300g, lo que producirá un efecto sobre el tejido esquelético en el complejo maxilofacial⁴³. Los resultados de los estudios donde se incluyó en su protocolo de ortopedia prequirúrgica el uso del Paladar de Hotz, mostraron que este actúa como un obturador separando la cavidad nasal de la bucal, en lugar de actuar como un aparato ortopédico craneofacial.

En 1993, Grayson describió una nueva técnica de modelado alveolar prequirúrgico. El NAM consiste en una placa intraoral con antenas nasales para moldear el reborde alveolar y el cartílago nasal al mismo tiempo⁴⁴. El objetivo del NAM es reducir la gravedad de la hendidura para que el cirujano logre una adecuada reparación del labio, alveolo y nariz. Grayson sugirió que el uso del NAM eliminaría la necesidad de la reconstrucción quirúrgica de la columela así como de la cicatriz resultante del labio y del paladar⁴⁵. Sin embargo, en los estudios incluidos en esta revisión Barillas y col.²⁴, Broder y col.²⁶ y Liang y col.²⁷ evaluaron el uso de la aparatología NAM como AOP, determinando la apariencia nasal, la apariencia facial y la simetría facial, respectivamente. Barillas y col.²⁴ reportaron resultados a favor de la intervención a excepción de la variable desviación columelar. Por otro lado, Broder y col.²⁶ y Liang y col.²⁷ reportaron que no hubo diferencia significativa entre grupos. Sin embargo, Liang y col.²⁷ determinaron variables subjetivas. En cambio, Shetty y col.²⁸ y Kinouchi y col.²⁹ evaluaron en modelos maxilares y sobre fotografías la efectividad del NAM. Shetty y col.²⁸ reportaron única-

mente 22,2% de resultados a favor del NAM en su segunda y tercera etapa de medición (distancia intersegmentos y el ancho intercanino). Mientras que, Kinouchi y col.²⁹ se inclinaron a favor de la intervención en el 54,5% de sus desenlaces. Sin embargo, sus resultados no son comparables con otros estudios. Rubin y col.²⁵ evaluaron la estética facial en pacientes UCLP y BCLP que usaron o no NAM con resultados a favor de la intervención. Sin embargo, la evaluación de sus desenlaces fue subjetiva, además, el estudio no reporta diversos datos como la edad de inicio y de duración de la ortopedia prequirúrgica, ni el tipo de cirugía utilizada. Bonanthaya y col.³², a diferencia de Rubin y col., solo evaluaron a pacientes con BCLP, el equipo reportó resultados a favor de la intervención en el 66,6% de los desenlaces. Por otro lado, Massie y col.³⁰ describieron el desarrollo de la vía aérea superior con ayuda de CBCT, con resultados sin diferencias significativas entre grupos, aunque este estudio no cuenta con los datos de la edad de inicio de la ortopedia o de la cirugía realizada. Finalmente, Akarsu-ğüven y col.³¹ analizaron el desarrollo en el complejo maxilomandibular a través de cefalometrías y sus resultados fueron sin efecto, además no existen datos sobre la cirugía realizada. En consecuencia, por la heterogeneidad de los estudios no se cuenta con evidencia de que el uso del NAM sea eficiente.

Desde hace más de una década, las publicaciones en el área médico-odontológico han aumentado de manera exponencial. De estas, los ensayos clínicos son considerados como la mejor evidencia para resolver un problema de salud. Desafortunadamente, diversas publicaciones cuentan con resultados divergentes a pesar de contar con características que superficialmente parecen similares, o utilizan diferentes variables para medir el resultado de la intervención⁴⁶⁻⁵¹. De ahí surge la importancia de la medicina basada en evidencia para determinar la validez de los estudios publicados y su análisis en conjunto mediante la revisión sistemática⁵².

En el presente trabajo los artículos incluidos cuentan con diversos desenlaces, diferentes tipo y tiempo de intervención, así como distintas cirugías, lo cual no permite agrupar de manera adecuada los estudios. Por otro lado, Bongarts y col. realizaron con un grupo de pacientes una serie de artículos con diferentes variables (oclusión¹⁷, desarrollo del maxilar¹⁸, estética facial²⁰ y análisis cefalométrico²¹) lo que genera sesgos en el reporte de los resultados; y, además, no se determinó la adherencia de los pacientes al tratamiento. En el mismo sentido, la evaluación de calidad de los estudios incluidos mostró muy baja y baja certeza de la evidencia lo que resulta en la imposibilidad de emitir recomendaciones sobre el uso del AOP.

CONCLUSIONES

Los AOP que tuvieron más resultados favorables en las variables estudiadas en términos de estética facial y aproximación de los segmentos maxilares para el cierre de la fisura sobre los pacientes con LPH, fueron los aparatos activos (NAM y McNeil). Sin embargo, la mayoría de las investigaciones presentaron riesgo de sesgo, e imprecisiones lo que decrementa su calidad. Además, las variables evaluadas son muy heterogéneas abarcando puntos craneofaciales y marcadores cefalométricos diversos, características oclusales, índices modificados y apariencia facial. Por otro lado, diversos artículos son estudios duplicados. se requieren de ensayos clínicos controlados aleatorizados con variables homogéneas, mayor poder estadístico, confiabilidad, y validez (interna y externa) para generar conclusiones robustas.

AGRADECIMIENTO

Liliana Argueta-Figueroa agradece al Programa Investigadoras e Investigadores por México del CONACyT, Gonzalo Artuza-Rosado y Mario Alberto Bautista-Hernández agradecen al Sistema Nacional de Posgrado del CONACyT. Todos los autores agradecen

a Eduardo Ulises Torres-Rosas por el apoyo en las revisiones al manuscrito, así como a la Coordinación de Posgrado y a la Dirección de la Facultad de Odontología por el apoyo otorgado.

Financiamiento

Gonzalo Artuza-Rosado recibió beca CONACyT #746568 de la Especialidad de Ortodoncia, Mario Alberto Bautista-Hernández recibió beca CONACyT #834580 del Doctorado en Biociencias.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Número ORCID de los autores

- Gonzalo Artuza-Rosado (GAR)
0000-0001-9322-0931
- Liliana Argueta-Figueroa (LAF)
0000-0002-1044-6757
- Mario A. Bautista-Hernández (MABH)
0000-0001-7884-4287
- Rafael Torres-Rosas (RTR)
0000-0002-5934-003X

Contribución de los autores

- RTR y LAF: Conceptualización, metodología y supervisión.
- GAR y MABH. Recolección, síntesis y análisis de datos.
- GAR, RTR y LAF. Escritura y preparación del manuscrito original.
- RTR. Revisión y edición del manuscrito.

REFERENCIAS

1. Pons-Bonals A, Pons-Bonals L, Hidalgo-Martínez SM, Sosa-Ferreira CF. Estudio clínico-epidemiológico en niños con labio paladar hendido en un hospital de segundo nivel. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*. 2017;74(2):107-121. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bmhimx.2016.11.008>.
2. Worley ML, Patel KG, Kilpatrick LA. Cleft lip and palate. *Clini Perinatol* 2018; 45(4):661-678
3. Shibano M, Watanabe A, Takano N, Mishima H, Kinoshita A, Yoshiura KI, Shibahara T. Target capture/next-generation sequencing for nonsyndromic cleft lip and palate in the Japanese population. *Cleft Palate Craniofac J* 2020;57(1):80-87. <https://doi.org/10.1177/1055665619857650>.
4. Berkowitz S. A review of the cleft lip/palate literature reveals that differential diagnosis of the facial skeleton and musculature is essential to achieve all treatment goals. *J Craniofac Surg* 2015;26(4):1143-1150. <https://doi.org/10.1097/scs.0000000000001592>.
5. Crockett DJ, Goudy SL. Cleft lip and palate. *Facial Plast Surg Clin North Am* 2014;22(4):573-586. <https://doi.org/10.1016/j.fsc.2014.07.002>.
6. Mossey PA, Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC. Cleft lip and palate. *Lancet* 2009;374(9703):1773-1785. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)60695-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(09)60695-4).
7. Rojas EG, Rivera MAS, Mariscal HA. Panorama epidemiológico de labio y paladar hendido en México. *Cirugía Plástica* 2017;27(1):10-15.
8. Gómez-Aguirre JN, Argueta-Figueroa L, Castro-Gutiérrez MEM, Torres-Rosas R. Effects of interproximal enamel reduction techniques used for orthodontics: A systematic review. *Orthod Craniofac Res* 2021. <https://doi.org/10.1111/ocr.12555>
9. Holger Schünemann JB, Gordon Guyatt, and Andrew Oxman. *Grade handbook 2013* [Available from: <https://gdt.gradepro.org/app/handbook/handbook.html>].
10. Bennun RD, Perandones C, Sepliansky VA, Chantiri SN, Aguirre MI, Dogliotti PL. Nonsurgical correction of nasal deformity in unilateral complete cleft lip: A 6-year follow-up. *Plast Reconstr Surg* 1999;104(3):616-6730. <https://doi.org/10.1097/00006534-199909030-00002>.
11. Adali N, Mars M, Petrie A, Noar J, Sommerlad B. Presurgical orthopedics has no effect

- on archform in unilateral cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofac J* 2012;49(1):5-13. <https://doi.org/10.1597/11-030>.
12. **Karling J, Larson O, Leanderson R, Henningsson G.** Speech in unilateral and bilateral cleft palate patients from stockholm. *Cleft Palate Craniofac J*. 1993;30(1):73-77. https://doi.org/10.1597/1545-1569_1993_030_0073_siuabc_2.3.co_2.
 13. **Ross RB, Macnamera MC.** Effect of presurgical infant orthopedics on facial esthetics in complete bilateral cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofac J* 1994;31(1):68-73. https://doi.org/10.1597/1545-1569_1994_031_0068_eopioo_2.3.co_2.
 14. **Emmy M, Konst HWTRHP.** Prelexical development of unilateral cleft lip and palate babies with reference to presurgical infant orthopaedics: A randomized prospective clinical trial. *Clin Linguist Phon* 1999;13(5):395-407. <https://doi.org/10.1080/026992099299059>.
 15. **Konst EM, Weersink-Braks H, Rietveld T, Peters H.** An intelligibility assessment of toddlers with cleft lip and palate who received and did not receive presurgical infant orthopedic treatment. *J Commun Disord* 2000;33(6):483-499; quiz 99-501. [https://doi.org/10.1016/s0021-9924\(00\)00035-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9924(00)00035-6).
 16. **Prahl C, Kuijpers-Jagtman AM, van't Hof MA, Prahl-Andersen B.** A randomised prospective clinical trial into the effect of infant orthopaedics on maxillary arch dimensions in unilateral cleft lip and palate (dutchcleft). *Eur J Oral Sci* 2001;109(5):297-305. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0722.2001.00056.x>
 17. **Bongaarts CA, Kuijpers-Jagtman AM, van 't Hof MA, Prahl-Andersen B.** The effect of infant orthopedics on the occlusion of the deciduous dentition in children with complete unilateral cleft lip and palate (dutchcleft). *Cleft Palate Craniofac J* 2004;41(6):633-641. <https://doi.org/10.1597/03-051.1>
 18. **Bongaarts CA, van 't Hof MA, Prahl-Andersen B, Dirks IV, Kuijpers-Jagtman AM.** Infant orthopedics has no effect on maxillary arch dimensions in the deciduous dentition of children with complete unilateral cleft lip and palate (dutchcleft). *Cleft Palate Craniofac J* 2006;43(6):665-672. <https://doi.org/10.1597/05-129>.
 19. **Prahl C, Prahl-Andersen B, van 't Hof MA, Kuijpers-Jagtman AM.** Infant orthopedics and facial appearance: A randomized clinical trial (dutchcleft). *Cleft Palate Craniofac J* 2006;43(6):659-664. <https://doi.org/10.1597/05-139>
 20. **Bongaarts CA, Prahl-Andersen B, Bronkhorst EM, Spauwen PH, Mulder JW, Vaandrager JM, Kuijpers-Jagtman AM.** Effect of infant orthopedics on facial appearance of toddlers with complete unilateral cleft lip and palate (dutchcleft). *Cleft Palate Craniofac J* 2008;45(4):407-413. <https://doi.org/10.1597/07-043.1>
 21. **Bongaarts CA, Prahl-Andersen B, Bronkhorst EM, Prahl C, Ongkosuwito EM, Borstlap WA, Kuijpers-Jagtman AM.** Infant orthopedics and facial growth in complete unilateral cleft lip and palate until six years of age (dutchcleft). *Cleft Palate Craniofac J* 2009;46(6):654-663. <https://doi.org/10.1597/08-034.1>.
 22. **Noverraz RL, Disse MA, Ongkosuwito EM, Kuijpers-Jagtman AM, Prahl C.** Transverse dental arch relationship at 9 and 12 years in children with unilateral cleft lip and palate treated with infant orthopedics: A randomized clinical trial (dutchcleft). *Clin Oral Invest* 2015;19(9):2255-2265. <https://doi.org/10.1007/s00784-015-1451-2>
 23. **Jorge PK, Gnoinski W, Vaz Laskos K, Felício Carvalho Carrara C, Gamba Garib D, Okada Ozawa T, Andrade Moreira Machado MA, Pinelli Valarelli F, Oliveira TM.** Comparison of two treatment protocols in children with unilateral complete cleft lip and palate: Tridimensional evaluation of the maxillary dental arch. *J Craniomaxillofac Surg* 2016;44(9):1117-1122. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.06.032>.
 24. **Barillas I, Dec W, Warren SM, Cutting CB, Grayson BH.** Nasoalveolar molding improves long-term nasal symmetry in complete unilateral cleft lip-cleft palate patients. *Plast Reconstr Surg* 2009;123(3):1002-1006. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e318199f46e>.
 25. **Rubin MS, Clouston S, Ahmed MM, K ML, Shetye PR, Broder HL, Warren SM, Grayson BH.** Assessment of presurgical clefts and predicted surgical outcome in patients treated with and without nasoalveolar molding.

- J Craniofac Surg 2015;26(1):71-75. <https://doi.org/10.1097/scs.0000000000001233>.
26. **Broder HL, Flores RL, Clouston S, Kirschner RE, Garfinkle JS, Sischo L, Phillips C.** Surgeon's and caregivers' appraisals of primary cleft lip treatment with and without nasoalveolar molding: A prospective multicenter pilot study. *Plast Reconstr Surg* 2016;137(3):938-945. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000479979.83169.57>.
 27. **Liang Z, Yao J, Chen PKT, Zheng C, Yang J.** Effect of presurgical nasoalveolar molding on nasal symmetry in unilateral complete cleft lip/palate patients after primary cheiloplasty without concomitant nasal cartilage dissection: Early childhood evaluation. *Cleft Palate Craniofac J* 2018;55(7):935-940. <https://doi.org/10.1597/14-296>.
 28. **Shetty V, Agrawal RK, Sailer HF.** Long-term effect of presurgical nasoalveolar molding on growth of maxillary arch in unilateral cleft lip and palate: Randomized controlled trial. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2017;46(8):977-987. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2017.03.006>
 29. **Kinouchi N, Horiuchi S, Yasue A, Kuroda Y, Kawai N, Watanabe K, Izawa T, Hashimoto I, Hassan AH, Tanaka E.** Effectiveness of presurgical nasoalveolar molding therapy on unilateral cleft lip nasal deformity. *Saudi Med J* 2018;39(2):169-178. <https://doi.org/10.15537/smj.2018.2.21020>.
 30. **Massie JP, Bruckman K, Rifkin WJ, Runyan CM, Shetye PR, Grayson B, Flores RL.** The effect of nasoalveolar molding on nasal airway anatomy: A 9-year follow-up of patients with unilateral cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofac J* 2018;55(4):596-601. <https://doi.org/10.1177/1055665617744062>.
 31. **Akarsu-Guven B, Arisan A, Ozgur F, Aksu M.** Influence of nasoalveolar molding on skeletal development in patients with unilateral cleft lip and palate at 5 years of age. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2018;153(4):489-495. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2017.08.012>.
 32. **Bonanthaya K, Nayak T, Bitra S, Rachwalski M, Shetty PN.** An assessment and comparison of nasolabial aesthetics in bilateral clefts using the anatomical subunit-based scale: A nasoalveolar moulding versus non-nasoalveolar moulding study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2019;48(3):298-301. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2018.10.007>.
 33. **Alexander W, Castellanos COC.** La disciplina de alexander: Conceptos y filosofías contemporáneos: Amolca; 2005.
 34. **Cisneros VM, Brieke WSM, Caballero CO, Garduño MPG.** Ortopedia maxilar temprana: diseño de un aparato como alternativa de tratamiento y experiencia de trece años. *Oral* 2007;8(24):380-382.
 35. **McNeil CK.** Congenital oral deformities. *Brit Dent J* 1956;101:191-196.
 36. **CK MN.** Oral and facial deformity. Pitman London. 1954.
 37. **Dayana Durón Rivas D, Granados Morales A, Canseco López J, Cuairán Ruidíaz V, Canseco Jiménez JF.** Ortopedia prequirúrgica en pacientes de labio y paladar hendido unilateral: Presentación de casos clínicos. *Revista Mexicana de Ortodoncia* 2017;5(2).
 38. **Nordin K-E, Larson O, Nylén B, Eklund G.** Early bone grafting in complete cleft lip and palate cases following maxillofacial orthopedics: I. The method and the skeletal development from seven to thirteen years of age. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1983;17(1):33-50. <https://doi.org/10.3109/02844318309007177>.
 39. **Rivas DD, Morales AG, López JC, Ruidíaz VC, Jiménez JFC.** Ortopedia prequirúrgica en pacientes de labio y paladar hendido unilateral: Presentación de casos clínicos. *Revista Mexicana de Ortodoncia*. 2017;5(2):89-99.
 40. **Hotz MM, Gnoinski WM.** Effects of early maxillary orthopaedics in coordination with delayed surgery for cleft lip and palate. *J Maxillofac Surg* 1979;7:201-210. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0301-0503\(79\)80041-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0301-0503(79)80041-7).
 41. **Eriguchi M, Watanabe A, Suga K, Nakano Y, Sakamoto T, Sueishi K, Uchiyama T.** Growth of palate in unilateral cleft lip and palate patients undergoing two-stage palatoplasty and orthodontic treatment. *Bull Tokyo Dent Coll* 2018;59(3):183-191. <https://doi.org/10.2209/tdcpublication.2017-0014>.
 42. **Mao JJ, Wang X, Kopher RA.** Biomechanics of craniofacial sutures: Orthopedic implications. *Angle Orthod* 2003;73(2):128-135.

43. **Daskalogiannakis J, Miethke RR, McNamara JA.** Glossary of orthodontic terms: Quintessence Publ. Batavia, IL, USA; 2000.
44. **Fuentes J, Silva M, Cantín M, Llermaly S.** Acercamiento de los procesos alveolares mediante ortopedia prequirúrgica en pacientes con labio y paladar fisurado. *Int J Odontostomatol* 2014;8(1):119-124.
45. **Grayson BH, Shetye PR.** Presurgical nasoalveolar moulding treatment in cleft lip and palate patients. *Indian J Plast Surg* 2009;42(S 01):S56-S61.
46. **Amahirany M-T, Rafael T-R, Hugo M-Z, Lourdes A-P, Liliana A-F.** Hydroxychloroquine in the treatment of covid-19 disease: A systematic review and meta-analysis. *Med J Indonesia.* 2021;30(1). <https://doi.org/10.13181/mji.oa.205012>.
47. **Castro-Gutiérrez MEM, Argüeta-Figueroa L, Fuentes-Mascorro G, Moreno-Rodríguez A, Torres-Rosas R.** Novel approaches for the treatment of necrotic immature teeth using regenerative endodontic procedures: A systematic review and meta-analysis. *Applied Sciences* 2021;11(11):5199.
48. **Mota-Rodríguez A-N, Olmedo-Hernández O, Argüeta-Figueroa L.** A systematic analysis of evidence for surgically accelerated orthodontics. *J Clin Exp Dent* 2019;11(9):e829-e38. <https://doi.org/10.4317/jced.56048>.
49. **Bautista-Hernández MA, Castillo-Real LM, Castro-Gutiérrez MEM, Gijón-Soriano AL, Argüeta-Figueroa L.** Terapias complementarias en el manejo integral del paciente con cáncer de cabeza y cuello: Una revisión sistemática exploratoria. *Revista Internacional de Acupuntura.* 2021;15(3). <https://doi.org/10.1016/j.acu.2021.05.001>.
50. **Ávila-Curiel BX, Gómez-Aguirre JN, Gijón-Soriano AL, Acevedo-Mascarúa AE, Argüeta-Figueroa L, Torres-Rosas R.** Intervenciones complementarias para el tratamiento de dolor en pacientes con alteraciones temporomandibulares: Una revisión sistemática. *Revista Internacional de Acupuntura.* 2020;14(4):151-159. <https://doi.org/10.1016/j.acu.2020.10.004>.
51. **Olmedo-Hernandez OL, Mota-Rodríguez AN, Torres-Rosas R, Argüeta-Figueroa L.** Effect of the photobiomodulation for acceleration of the orthodontic tooth movement: A systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci* 2022. <https://doi.org/10.1007/s10103-022-03538-8>.
52. **Torres-Rosas R.** Generalidades de la elaboración de la revisión sistemática en acupuntura. *Revista Internacional de Acupuntura.* 2022;16(3):100192.

Neurological manifestations associated with SARS-CoV-2 infection: an updated review.

Diana Cevallos-Macías¹, Gilberto Vizcaíno Salazar^{1,2} and Aline Siteneski^{1,2}

¹Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Medicina, Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Ecuador.

²Instituto de Investigación y Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Ecuador.

Keywords: Neurological manifestations; neuroinvasive mechanism; COVID-19; SARS-CoV-2.

Abstract. SARS-CoV-2 is a single-stranded RNA virus that belongs to the group of seven coronaviruses that affect humans, and its infection causes the COVID-19 disease. The association between the COVID-19 condition and risk factors of neurological manifestations is unclear to date. This review aims to update the main neurological manifestations associated with SARS-CoV-2 disease. First, we present the hypothesis of the neuroinvasion mechanisms of SARS-CoV-2. Then, we discuss the possible symptoms related to patients with COVID-19 infection in the central and peripheral nervous systems, followed by the perspectives of diagnosis and treatment of possible neurological manifestations. The hypothesis of the neuroinvasion mechanism includes direct routes, as the virus crosses the blood-brain barrier or the ACE2 receptor pathway role, and indirect pathways, such as malfunctions of the immune system and vascular system dysregulation. Various studies report COVID-19 consequences, such as neuroanatomic alterations and cognitive impairment, besides peripheral conditions, such as anosmia, ageusia, and Guillain Barré Syndrome. However, the heterogeneity of the studies about neurologic damage in patients after COVID-19 infection precludes any generalization of current findings. Finally, new studies are necessary to understand the adequate diagnosis, therapeutic method of early treatment, and risk group of patients for neurological manifestations of COVID-19 post-infection.

Manifestaciones neurológicas asociadas con la infección por SARS-CoV-2: una revisión actualizada.

Invest Clin 2023; 64 (1): 108 – 122

Palabras clave: manifestaciones neurológicas; mecanismo neuroinvasivo; COVID-19; SARS-CoV-2.

Resumen. El SARS-CoV-2 es un virus de ARN monocatenario que pertenece al grupo de los siete coronavirus que afectan a los humanos y cuya infección causa la enfermedad COVID-19. La asociación entre la infección por COVID-19 y factores de riesgo de manifestaciones neurológicas aún no está clara. Esta revisión tiene como objetivo actualizar la descripción de las principales manifestaciones neurológicas asociadas a la infección por SARS-CoV-2. Presentamos la hipótesis de los mecanismos de neuroinvasión del SARS-CoV-2. Luego discutimos los posibles síntomas asociados a los pacientes con infección por COVID-19 en el sistema nervioso central y periférico y, posteriormente, las perspectivas de diagnóstico y tratamiento de las posibles manifestaciones neurológicas. La hipótesis del mecanismo de neuroinvasión incluye rutas directas cuando el virus cruza la barrera hematoencefálica o tiene acción vía del receptor ACE2 y vías indirectas tales como el mal funcionamiento del sistema inmunitario y la desregulación del sistema vascular. Diversos estudios reportan consecuencias del COVID-19, como la presencia de alteraciones neuroanatómicas y deterioro cognitivo, además de condiciones periféricas como anosmia, agusia y Síndrome de Guillain Barré. La heterogeneidad de los estudios sobre el daño neurológico en pacientes después de la infección por COVID-19 impide cualquier generalización de los hallazgos actuales. Finalmente, son necesarios nuevos estudios enfocándose en comprender el diagnóstico adecuado, el método terapéutico de tratamiento temprano y el grupo de riesgo para las manifestaciones neurológicas de la pos infección por COVID-19.

Received: 03-09-2022 Accepted: 26-09-2022

INTRODUCTION

The COVID disease emerged in Wuhan-China in 2019 with rapid transmission and caused severe consequences in society, economies, and healthcare systems ¹. Until July 2022, more than 500 million confirmed cases of COVID-19 and around 6.3 million deaths have been reported worldwide ². In this scenario, the data for 2020 showed that the United States had the highest number of cases and deaths from COVID-19 ³. The agent responsible for these high rates of

morbidity and mortality is SARS-CoV-2. This is a single-stranded RNA virus that belongs to the group of seven coronaviruses that affect humans ⁴. The symptomatology associated with COVID-19 is respiratory, mainly fever and cough, and the infection can lead to pneumonia ⁵.

The association between COVID-19 infection and risk factors of neurological manifestations is unclear to date. Recent studies report that SARS-CoV-2 causes damage to the central and peripheral nervous systems⁶. Complications such as encephalopathy,

stroke, atypical, neurocognitive disorders, and neuropsychiatric symptom as delirium and confusion are common in severe infections⁷. Post-infection peripheral conditions such as anosmia, ageusia, and Guillain Barré Syndrome have also been previously reported⁸. Apparently, the COVID-19 neurologic manifestation seems familiar and may present as the only symptom without any other manifestation of respiratory system involvement⁹.

Brain analysis of images before and after infection with SARS-CoV-2 suggests that COVID-19 is associated with neuroanatomic alterations and cognitive impairment¹⁰. In fact, a neuroimaging study with 401 patients with SARS-CoV-2 positive showed structural alterations of the brain, such as longitudinal cortical volume loss and changes in regions¹¹. Due to the wide variation of symptoms, individuality, and previous comorbidities in the people, the association between COVID-19 with some neurological manifestations is challenging. In addition, there exists the necessity to evaluate the duration and reversibility of neuroimaging changes observed in studies¹⁰. Thus, the aim of this review is update of main neurological manifestations associated with SARS-CoV-2 infection. First, we present the hypothesis of the neuroinvasion mechanisms of SARS-CoV-2. Then, we discuss the possible symptoms related to the COVID-19 infection in the central and peripheral nervous systems. Furthermore, we show the perspectives diagnosis of neurological manifestation post-SARS-CoV-2 infection.

Literature Data Searching

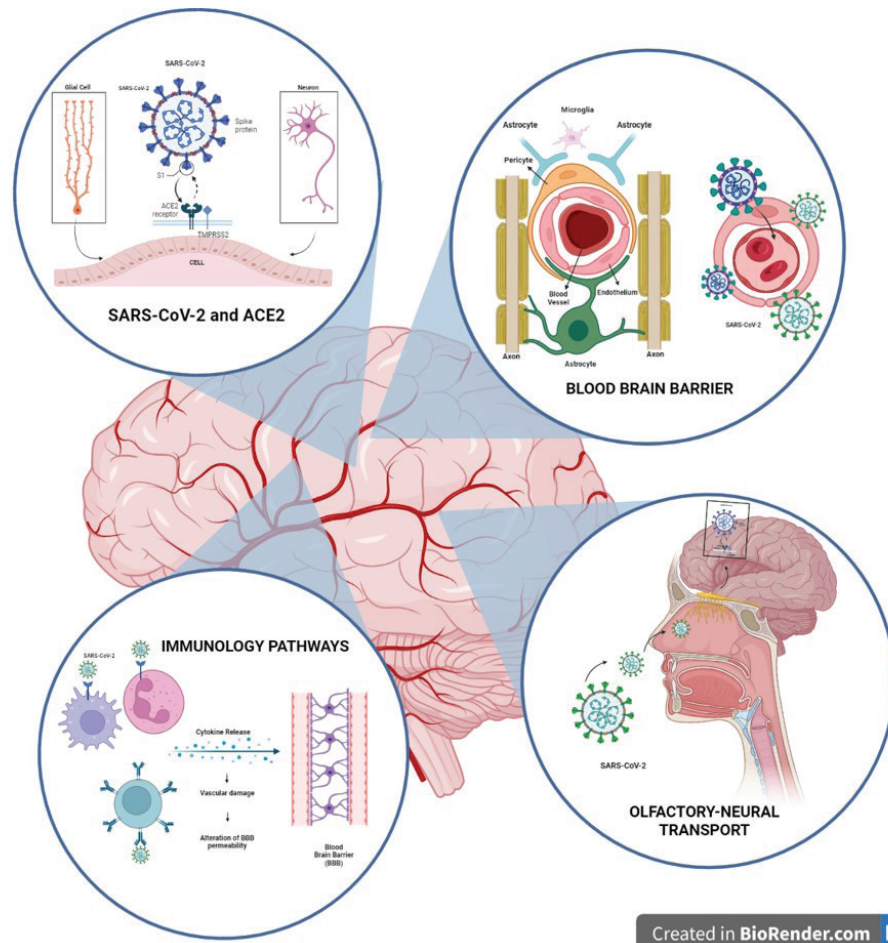
This review presents a mechanistic overview of the clinical research regarding the effects of SARS-CoV-2 on the nervous system. To review possible symptoms associated with the COVID-19 infection in the central and peripheral nervous systems, we selected clinical and epidemiological studies published over two years and two months (May 2020 to July 2022) period. The search

included original manuscripts and contemporary reviews published in English, assessed by specific search terms in the title or abstract of the manuscripts available through PubMed. The search terms used were “SARS-CoV-2 and blood-brain barrier”, “SARS-CoV-2 and neuroinvasion mechanisms”, “SARS-CoV-2 and peripheral nervous system”, and “SARS-CoV-2 and central nervous system”. Additionally, “COVID-19 and blood-brain barrier”, “SARS-CoV-2 and neuroinvasive mechanisms,” “COVID-19 and peripheral nervous system”, and “COVID-19 and central nervous system” We performed a specific screening of the clinical studies that investigated neurobiological manifestations after SARS-CoV-2 in the central and peripheral nervous systems.

Hypothesis for the neuroinvasion mechanisms of post-infection by SARS-CoV-2

Although the neuroinvasion mechanism of SARS-CoV-2 is uncharted, some hypotheses have been postulated to explain how the virus crosses the blood-brain barrier (BBB)¹² (Fig. 1). The BBB is a multilayer highly effective system that protects the nervous system from an invasion of pathogenic agents and promotes immune responses^{13,14}. Some studies postulate that SARS-CoV-2 can infect the endothelial cells, which are cells that compose the BBB and the choroid plexus region that produce the cerebrospinal fluid^{15,16}. Through the infection, SARS-CoV-2 accesses the nervous system to the pathway known as the hematogenous pathway², generating a hyperinflammation stage and loss of BBB permeability^{17,18}.

The most accepted hypothesis of the neuroinvasion mechanism² postulates that the SARS-CoV-2 agent predominantly exploits human protein receptors to the angiotensin-converting enzyme receptor (ACE2 receptor)^{19,20}. This receptor expresses on the cell surface of various human cells, including glial cells and neurons. Additionally, to the direct encroach of nerve endings on



Created in BioRender.com bio

Fig. 1. Possible neuroinvasion mechanism post-SARS-CoV-2 infection.

the cell surface, other different transmission routes could facilitate SARS-CoV-2 arrival on the nervous system structures²⁰. The olfactory-neural transport may be the route used by SARS-CoV-2 to invade the brain (Fig. 1). A higher expression of ACE2 receptors in neuronal cells exists in the olfactory cells^{21,22}. Curiously, in the central nervous system, the ACE2 expression level is significant in pons and medulla oblongata, the neuro-anatomic regions responsible for the brain's respiratory centers²³. The axon of olfactory neuron cells may form a pathway conducting SARS-CoV-2 to the brain²². A study evaluating ACE2 receptor expression in 85 human tissues showed 21 different brain regions²³

Another hypothesis of the neuroinvasion mechanism of SARS-CoV-2 with indirect

routes includes the immunity pathway with the malfunction of the immune system and dysregulation of the vascular system^{13,14,24} (Fig. 1). SARS-CoV-2 may infect the immune cells and produce excessive immune responses that trigger systemic hyperinflammation²⁵. In response, the immune cells release cytokines that may damage blood vessels and alter the permeability of the blood-brain barrier²⁶. Consequently, infected immune cells are vehicles for disseminating SARS-CoV-2 to the nervous system²⁷. The cerebral vascular endothelium has a self-regulatory function in the vascular system. When SARS-CoV-2 invades the vascular endothelium, it can elevate cerebral blood pressure, causing the blood vessel to rupture and reducing the functionality of the vascular system^{28,29}.

The classical receptor-mediated endocytosis pathway may allow the SARS-CoV-2 entry into epithelial cells. A recent *in vitro* study explored the hypothesis that SARS-CoV-2 spreads between permissive and nonpermissive neuronal cells³⁰. SARS-CoV-2 likely uses tunneling nanotubes membranous conduits rich in actin for intercellular invading nonpermissive cells and potentiating infection in permissive cells. Future studies may explore the permissive and nonpermissive pathways of SARS-CoV-2.

Neurobiological manifestations in the central and peripheral nervous systems post-infection by COVID-19

In the post-infection by SARS-CoV-2, the patients may present consequences in the central and peripheral nervous systems. However, the relationship between cause and effect of the neurobiological manifestations is still not elucidated entirely^{24,29}. Cerebrovascular complications and psychiatry symptoms are reported in the central system and peripheral nervous systems, with demyelinating lesions and neuromuscular symptoms^{31,32}. Notably, patients with comorbidities, severe infection, and advanced age are the most vulnerable to neurological manifestation post-infection by SARS-CoV-2^{20,29,33-36}.

SARS-CoV-2 causes direct damage to the vascular endothelium and hyperinflammation³⁷. Several studies have reported that cerebrovascular disease is a common complication after SARS-CoV-2 infection, with a prevalence oscillating between 2.3%, 1.4%, and 6% of infected patients³⁷⁻⁴⁰. The common cerebrovascular manifestations are hemorrhagic stroke, ischemic stroke, and the development of coagulopathies such as arterial and venous thrombosis^{38,39}. Brain biopsies have shown thrombotic microangiopathies in critically state patients after COVID-19 infection³⁸. In addition, hypoxemia and imbalance of the renin-angiotensin system could be involved in the development of cerebrovascular disease manifestation after COVID-19²⁸.

Inflammatory lesions of the brain parenchyma, such as encephalitis, have also been documented in patients post-infection with COVID-19⁴¹. A study showed autopsies with the presence of cerebral edema in patients positive for the infection⁴². The genome sequencing studies have shown the presence of viral antigen of SARS-CoV-2 in cerebrospinal fluid of patients with encephalitis and meningitis. In addition, cases of encephalopathy have been reported in positive COVID-19 patients^{43,44}. Seizures have also been a complication in patients hospitalized for COVID-19⁴⁵. Mechanisms such as releasing inflammatory cytokines and stimulating astrocytes and microglia could be involved in seizures⁴⁶. The stimulation induced by the union of SARS-CoV-2 with the ACE2 receptor in neurons releases IL-6, a pro-inflammatory cytokine. Consequently, COVID-19 causes chronic inflammation, and neuronal hyperexcitability can induce epilepsy⁴⁷.

In the context of neurological manifestations, there have been consequences reported in the peripheral nervous system in post-COVID-19 patients^{48,49}. Anosmia (loss of smell), ageusia (loss of taste), and hyposmia (decreased smell) are the main manifestations reported in patients post-SARS-CoV-2 infection^{31,48}. A study showed that 50% of patients have taste and smell disorders at the onset of COVID-19⁴⁹. Other work exhibits a high prevalence of taste disorders 38.5%, olfactory disorders 35.8%, myalgia 19.3 % 2, and Guillain Barre Syndrome 16.6%^{12 50}. The clinical symptoms of ageusia and anosmia could be considered predictors of SARS-CoV-2 infection⁵¹. A study conducted by Mao *et al.*, with a sample of 214 patients, reports 5.1% with anosmia and 5.6% with ageusia²⁹. Possibly, anosmia and ageusia manifestations arise from direct injury to olfactory and taste receptors caused by SARS-CoV-2⁵².

Furthermore, peripherally paresthesias, dyssynergia (loss of motor coordination), areflexia (loss of reflexes), and flaccid paralysis have been observed in some SARS-CoV-2 positive patients⁵³. The most frequent mani-

festation is the Guillain Barré Syndrome, characterized by an immune system reaction that attacks peripheral neuron axons. Guillain Barré Syndrome's initial symptoms are peripheral weakness and tingling. The progression of the disease can cause generalized paralysis⁵⁴. The diagnosis may confirm Guillain Barré syndrome in an electroneurography for the absence of the muscle action potential in the axons of peripheral neurons⁵⁵. The first case reported of this syndrome associated with COVID-19 was in Wuhan in a 61-year-old woman⁵⁶.

It is worth highlighting that musculoskeletal symptoms such as myalgias and paresthesias are also manifestations of the peripheral nervous system associated with SARS-CoV-2¹². An increase in musculoskeletal injury markers such as creatine kinase and lactate dehydrogenase in the blood of some COVID-19 patients was observed². A study conducted in Wuhan showed that 32% of patients presented the clinical symptom of difficulty grasping objects after hospitalization for COVID-19⁵⁷. Indeed, studies suggest that SARS-CoV-2 leads to deficiencies in muscle strength and endurance, possibly due to inflammatory effects^{57,58}. A case study reports that post-infection patients correlated the demyelinating lesions with neurologic complications such as anosmia and dysgeusia³¹. On the other hand, despite the negative quarantine experience, it is impossible to establish a cause-and-effect relationship between neuropsychiatric conditions and COVID-19 disease⁵⁹. Individual and environmental factors such as the stress of confinement or a genetic predisposition influenced by stress can contribute to the development of different neuropsychiatric disorders observed in patients post- COVID-19 infection.

Neuroimaging studies with manifestations associated with post-infection by SARS-CoV-2

Widely used methods of neuroimaging, such as magnetic resonance imaging (MRI) and computed tomography, have

been utilized to diagnose neurobiological manifestations associated with post-infection by SARS-CoV-2^{33,60,61}. One study evaluated with MRI 59 patients positive for COVID-19 and diagnosed white matter lesions (39.0%), subacute infarctions (6.8%), leukoencephalopathy (10.2%), and multiple sclerosis (5.1%)⁶⁰. Another study found microhemorrhages related to thrombotic and hypoxic microangiopathy in 3.4% of the patients⁶¹. Recently, a longitudinal study evaluated 785 participants post-infection by COVID-19 at different times. The research found a reduced tissue contrast and gray matter thickness in the orbitofrontal cortex and parahippocampal gyrus; additionally to changes in functionally connected to the primary olfactory cortex and a reduction in the global brain. Besides, the work data reported a more significant cognitive decline over the evaluation period¹¹. Interestingly, the study observed abnormalities in limbic brain regions forming a mainly olfactory network that may indicate a future vulnerability of the limbic system in particular, including memory¹¹.

In computed tomography of critical patients with post-infection by COVID-19 intracerebral, intraventricular, and subarachnoid hemorrhage, frontal hypo metabolism, and cerebellar hypermetabolism were observed^{28,62}. Curiously, a study evaluating 18 brains of patients who died 0 to 32 days after the onset of symptoms of COVID-19 in the histopathological analysis showed only hypoxic changes and did not show encephalitis or other specific brain changes referable to the infection⁶³. A study with post-mortem brain magnetic resonance evaluation of 62 patients dead at a time < 24 hours by COVID-19 demonstrated hemorrhagic and posterior reversible encephalopathy syndrome brain lesions⁶⁴. Additionally, the study showed that the SARS-CoV-2 seems limited to olfactory impairment, and the brainstem evaluation findings do not support a brain-related contribution to the respiratory distress of the patients⁶⁴.

Many studies have focused on searching for biomarkers to express the central nervous system injury induced by SARS-CoV-2⁶⁵⁻⁶⁸. Neuronal and astrocyte injury markers, such as the neurofilament light chain protein, showed a sustained increase with maintenance. The glial fibrillary acidic protein showed an early peak in plasma and a decrease in the follow-up of 47 positive patients for COVID-19⁶⁶. More recently, higher serum concentrations of neurofilament light chains were associated with worse clinical outcomes in 142 hospitalized patients positive for COVID-19⁶⁷. The serum concentrations of neurofilament light chains may represent a neuroaxonal injury marker that could predict the extent of neuronal damage^{66,67}.

Some studies attempt to correlate the presence of neuroinflammation and vascular injury in patients post-infection by COVID-19. For example, cerebrospinal fluid markers of inflammation, such as neopterin and beta microglobulin, were increased in a study that evaluated six patients⁶⁸. Also, high levels of antiphospholipid antibodies have been shown in positive cases of encephalomyelitis⁶⁹. Finally, studies carried out with PCR report the presence of anti-SARS-CoV-2 antibodies and SARS-CoV-2 RNA in the cerebrospinal fluid^{70,71}. Of note is the presence of anti-SARS-CoV-2 and SARS-CoV-2 RNA in the cerebrospinal fluid in patients with severe complications such as encephalitis, meningitis, and demyelinating disease⁷¹. Currently, it is impossible to affirm the sensitivity of the positive SARS-CoV-2 PCR method in cerebrospinal fluid. In cases of clinical patient examination of the cerebrospinal fluid for viruses such as tick-borne encephalitis, the diagnosis for PCR is not standard because it has low sensitivity. In addition, the presence of the encephalitis virus may be transient in the cerebrospinal fluid. Therefore, it is not yet clear which is the best diagnostic approach to diagnose SARS-CoV-2 CNS infection or the parainfectious immune reaction associated with SARS-CoV-2. So far, there

are no reports on the intrathecal synthesis of SARS-CoV-2-specific IgG⁷².

Limitations

Our study also has several limitations. First, this review's characteristic and purpose is the literature update. Second, it does not realize a systematic review of post-infection by SARS-CoV-2 to assess the observational and or randomized clinical trials of literature. This paper did not explore the link between SARS-CoV-2 and the neurocognitive deficit. Various factors may influence the correlation of cognitive disorders in people infected by SARS-CoV-2. For example, the stress caused by isolation, the pandemic restrictions, online teaching, and the return to regular activities⁷³⁻⁷⁵. In addition, different studies report memory loss, cognitive deterioration, depression, and deficits in executive functioning evaluated in different periods after infecting by COVID-19^{74,76-78}. Nonetheless, is not possible to differentiate whether the cognitive impairment found in patients post-COVID-19 infection corresponded to mild cognitive impairment or dementia⁷⁹.

Conclusions and Future Directions

This review discussed the primary evidence underlining the neurobiological manifestations associated with post-infection by SARS-CoV-2. Of particular relevance, compelling evidence suggests that post-infection by SARS-CoV-2 patients presents neurological manifestations in the central and peripheral nervous system. In support, several observational studies have shown cerebrovascular complications and inflammatory lesions in the peripheral system, causing demyelinating lesions and neuromuscular symptoms^{31,32,41}. The duration of neurological manifestations after COVID-19 infection seems to vary during the first six months after the illness onset⁸⁰. Given this, some studies have investigated the possible neuroinvasion mechanism of SARS-CoV-2, and postulated hypotheses

to explain the virus penetration across the blood-brain barrier. However, clinical studies assessing the specific manifestations associated with post-infection by SARS-CoV-2 are still scarce, and their results are sometimes controversial.

The discrepant results from observational studies call for the need to conduct future studies. Considering the risk factors and comorbidities in patients, this should be done before affirming the association between neurological manifestations and post-infection by SARS-CoV-2. Neurological complications are associated with the worst mortality rates⁸¹.

According to a recent systematic analysis, most research published on neurocognitive deficits following SARS-CoV-2 infection recruited subjects before the world's population was utterly immunized⁸². Another systematic review showed that non-specific inflammatory CSF abnormalities were common in patients with post-COVID-19 infection and nervous system syndromes. The study suggests that neurodegeneration biomarkers and a link to neuronal damage with long-term consequences are unknown⁸³. On the other hand, in brain MRI, the heterogeneity of the studies about neurologic damage in patients after COVID-19 infection precludes any generalization of the findings⁸⁴. Therefore, new research may assess the potential of post-infection by SARS-CoV-2 to cause neurological manifestations in patients in the current context after worldwide vaccination. In this sense, there are several publications related to SARS-CoV-2 vaccination and neurological disorders such as the thrombotic thrombocytopenic syndrome^{85,86}. Finally, the new studies should focus on research to understand the therapeutic method of early treatment, adequate diagnosis, and risk group for neurological manifestations post-infection by SARS-CoV-2⁸⁷.

Funding

This study was supported by the Instituto de Investigación and Facultad de Ciencias

de la Salud, Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Ecuador.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no potential conflicts of interest to disclose related to this study.

Number ORCID of authors

- Diana Cevallos Macías (DCM): 0000-0002-3532-5935
- Aline Siteneski (AS): 0000-0001-6692-7253
- Gilberto Vizcaíno (GV): 0000-0003-2785-1879

Authorship contribution statement

- DCM: conceptualization; original draft and writing of the manuscript.
- GV: writing and preparing the final draft of the manuscript.
- AS: supervision, writing, and preparing the final draft of the manuscript.
- All authors of this paper have read and approved the final version of the submitted manuscript.

REFERENCES

1. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, Liu L, Shan H, Lei C, Hui D, Du B, Li L, Zeng G, Yuen K, Chen R, Tang C, Wang T, Chen P, Xiang J, Li S, Wang J, Liang Z, Peng Y, Wei L, Liu Y, Hu Y, Peng P, Wang J, Liu J, Chen Z, Li G, Zheng Z, Qiu S, Luo J, Ye C, Zhu S, Zhong N. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020; 382(18): 1708-1720. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>.
2. Wan D, Du T, Hong W, Chen L, Que H, Lu S, Peng X. Neurological complications and infection mechanism of SARS-CoV-2. *Signal Transduct Target Ther* 2021; 6(1): 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00818-7>.

3. Pei S, Yamana TK, Kandula S, Galanti M, Shaman J. Burden and characteristics of COVID-19 in the United States during 2020. *Nature* 2021; 598(7880): 338–341. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03914-4>.
4. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao G, Tan W. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020; 382(8): 727–733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.
5. Bhatraju PK, Ghassemieh BJ, Nichols M, Kim R, Jerome KR, Nalla AK, Greninger A, Pipavath S, Wurfel M, Evans L, Kritek P, West T, Luks A, Gerbino A, Dale C, Goldman J, O'Mahony S, Mikacenic C. Covid-19 in critically ill patients in the Seattle Region — case series. *N Engl J Med* 2020; 382(21): 2012–2022. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2004500>.
6. Li H, Xue Q, Xu X. Involvement of the nervous system in SARS-CoV-2 infection. *Neurotox Res* 2020; 38(1): 1–7. <https://doi.org/10.1007/s12640-020-00219-8>.
7. Helms J, Kremer S, Merdji H, Clere-Jehl R, Schenck M, Kummerlen C, Collange O, Boulay C, Fafi-Kremer S, Ohana M, Anheim M, Meziani F. Neurologic features in severe SARS-CoV-2 infection. *N Engl J Med* 2020; 382(23): 2268–2270. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2008597>.
8. Valiuddin H, Kalajdzic A, Rosati J, Boehm K, Hill D. Update on neurological manifestations of SARS-CoV-2. *West J Emerg Med* 2020; 21(6): 45–51. <https://doi.org/10.5811/westjem.2020.8.48839>.
9. Favas TT, Dev P, Chaurasia RN, Chakravarty K, Mishra R, Joshi D, Mishra V, Kumar A, Singh V, Pandey M, Pathak A. Neurological manifestations of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of proportions. *Neurological Sciences* 2020; 41(12): 3437–3470. <https://doi.org/10.1007/s10072-020-04801-y>.
10. Kremer S, Jäger HR. Brain changes after COVID-19 — how concerned should we be? *Nat Rev Neurol* 2022; 18(6): 321–322. <https://doi.org/10.1038/s41582-022-00661-6>.
11. Douaud G, Lee S, Almagro F, Arthofer C, Wang C, McCarthy P, Lange F, Andersson J, Griffanti L, Duff E, Jbabdi S, Tassler B, Keating P, Winkler A, Collins R, Matthews P, Allen N, Miller K, Nichols T, Smith S. SARS-CoV-2 is associated with changes in brain structure in UK Biobank. *Nature* 2022; 604(7907): 697–707. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04569-5>.
12. DosSantos M, Devalle S, Aran V, Capra D, Roque N, Coelho J, Spohr T, Subilhaga J, Pereira C, D'Andrea M, Niemeyer P, Moura V. Neuromechanisms of SARS-CoV-2: a review. *Front Neuroanat* 2020; 14(37): 1–10. <https://doi.org/10.3389/fnana.2020.00037>.
13. Koyuncu OO, Hogue IB, Enquist LW. Virus infections in the nervous system. *Cell Host & Microbe* 2013; 13(4): 379–393. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.03.010>.
14. Manglani M, McGavern DB. New advances in CNS immunity against viral infection. *Curr Opin Virol* 2018; 28: 116–126. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.12.003>.
15. Yang A, Kern F, Losada P, Agam M, Maat C, Schmartz G, Fehlmann T, Stein J, Schaum N, Lee D, Calcuttawala K, Vest R, Berdnik D, Lu N, Hahn O, Gate D, Mc Nerney M, Channappa D, Cobos I, Ludwig N, Schulz W, Keller A, Wyss T. Dysregulation of brain and choroid plexus cell types in severe COVID-19. *Nature* 2021; 595(7868): 565–571. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03710-0>.
16. Alquisiras I, Peralta I, Alonso L, Zacapala A, Salmerón E, Aguilera P. Neurological complications associated with the blood-brain barrier damage induced by the inflammatory response during SARS-CoV-2 infection. *Molecular Neurobiology* 2021; 58(2): 520–535. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02134-7>.
17. Pellegrini L, Albecka A, Mallery D, Kellner M, Paul D, Carter A, James L, Lancaster M. SARS-CoV-2 infects the brain choroid plexus and disrupts the blood-CSF barrier in human brain organoids. *Cell Stem Cell* 2020; 27(6): 951–961. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.001>.
18. Wruck W, Adjaye J. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is co-expressed with genes related to transmembrane serine proteases, viral entry, immunity and cellular stress.

- Sci Rep 2020; 10(1): 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78402-2>.
19. Hoffmann M, Kleine H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens T, Herrler G, Wu N, Nitsche A, Müller M, Drosten C, Pöhlmann S. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020; 181(2): 271-280. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.
 20. Han Y, Yuan K, Wang Z, Liu W, Lu Z, Liu L, Shi L, Yan W, Yuan J, Li J, Shi J, Liu Z, Wang G, Kosten T, Bao Y, Lu L. Neuropsychiatric manifestations of COVID-19, potential neurotropic mechanisms, and therapeutic interventions. *Transl Psychiatry* 2021; 11(1): 1-16. <https://doi.org/10.1038/s41398-021-01629-8>.
 21. Bilinska K, Jakubowska P, von Bartheld CS, Butowt R. Expression of the SARS-CoV-2 entry proteins, ACE2 and TMPRSS2, in Cells of the olfactory epithelium: identification of cell types and trends with age. *ACS Chem Neurosci* 2020; 11(11): 1555–1562. <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.0c00210>.
 22. Butowt R, Bilinska K. SARS-CoV-2: olfaction, brain Infection, and the urgent need for clinical samples allowing earlier virus detection. *ACS Chem Neurosci* 2020; 11(9): 1200–1203. <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.0c00172>.
 23. Lukiw W, Pogue A, Hill J. SARS-CoV-2 infectivity and neurological targets in the brain. *Cell Mol Neurobiol* 2022; 42(1): 217–224. <https://doi.org/10.1007/s10571-020-00947-7>.
 24. Najjar S, Najjar A, Chong D, Pramanik B, Kirsch C, Kuzniecky R, Pacia S, Azhar S. Central nervous system complications associated with SARS-CoV-2 infection: integrative concepts of pathophysiology and case reports. *J Neuroinflammation* 2020; 17(1): 2-14. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01896-0>.
 25. Coperchini F, Chiovato L, Croce L, Magri F, Rotondi M. The cytokine storm in COVID-19: an overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2020; 53: 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.05.003>.
 26. Mohammadi S, Moosaie F, Aarabi M. Understanding the immunologic characteristics of neurologic manifestations of SARS-CoV-2 and potential immunological mechanisms. *Molecular Neurobiology* 2020; 57(12): 5263–5275. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02094-y>.
 27. Li Z, Liu T, Yang N, Han D, Mi X, Li Y, Liu K, Vuylsteke A, Xiang H, Guo X. Neurological manifestations of patients with COVID-19: potential routes of SARS-CoV-2 neuroinvasion from the periphery to the brain. *Front Med* 2020; 14(5): 533–541. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0786-5>.
 28. Sharifi-Razavi A, Karimi N, Rouhani N. COVID-19 and intracerebral haemorrhage: causative or coincidental? *New Microbes New Infect* 2020; 35: 100669. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100669>.
 29. Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, Chang J, Hong C, Zhou Y, Wang D, Miao X, Li Y, Hu B. Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol* 2020; 77(6): 683 – 690. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.1127>.
 30. Pepe A, Pietropaoli S, Vos M, Barba-Spaeth G, Zurzolo C. Tunneling nanotubes provide a route for SARS-CoV-2 spreading. *Sci Adv* 2022; 8(29): eabo0171. [doi:10.1126/sciadv.abo0171](https://doi.org/10.1126/sciadv.abo0171)
 31. Zanin L, Saraceno G, Panciani P, Renisi G, Signorini L, Migliorati K, Fontanella M. SARS-CoV-2 can induce brain and spine demyelinating lesions. *Acta Neurochir* 2020; 162(7): 1491-1494. <https://doi.org/10.1007/s00701-020-04374-x>.
 32. Rogers J, Chesney E, Oliver D, Pollak T, McGuire P, Fusar P, Zandi M, Lewis G, David A. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry* 2020; 7(7): 611–627. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(20\)30203-0](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(20)30203-0).
 33. Xiong W, Mu J, Guo J, Lu L, Liu D, Luo J, Yang D, Gao H, Zhang Y, Lin M, Shen S, Zhang H, Chen L, Wang G, Luo F, Li W, Chen S, He L, Sander J, Zhou D. New onset neurologic events in people with COVID-19 in 3 regions in China. *Neurolo-*

- gy 2020; 95(11): 1479-1487. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000010034>.
34. Mahammedi A, Saba L, Vağal A, Leali M, Rossi A, Gaskill M, Sengupta S, Zhang B, Carriero A, Bachir S, Crivelli P, Pasché A, Premi E, Padovani A, Gasparotti R. Imaging of neurologic disease in hospitalized patients with COVID-19: an italian multi-center retrospective observational study. *Radiology* 2020; 297(2): 270-273. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020201933>.
 35. Romero C, Díaz I, Fernández E, Sánchez A, Layos A, García J, González E, Redondo I, Perona A, DelValle J, Gracia J, Rojas B, Ferial I, Monteagudo M, Palao M, Palazón E, Alcahut C, Sopelana G, Moreno Y, Ahmad J, Segura T. Neurologic manifestations in hospitalized patients with COVID-19. *Neurology* 2020; 95(8): 1060-1070. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000009937>.
 36. Chua TH, Xu Z, King N. Neurological manifestations in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Brain Injury* 2020; 34(12): 1549-1568. <https://doi.org/10.1080/02699052.2020.1831606>.
 37. Li Y, Li M, Wang M, Zhou Y, Chang J, Xian Y, Wang D, Mao L, Jin H, Hu B. Acute cerebrovascular disease following COVID-19: a single center, retrospective, observational study. *Stroke Vasc Neurol* 2020; 5(3): 279-284. <https://doi.org/10.1136/svn-2020-000431>.
 38. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020; 18(4): 844-847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>.
 39. Hernández F, Sandoval H, Barbella R, Collado R, Ayo O, Barrena C, Molina J, García J, Lozano E, Alcahut C, Martínez A, Sánchez A, Segura T. Cerebrovascular disease in patients with COVID-19: neuroimaging, histological and clinical description. *Brain* 2020; 143(10): 3089-3103. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa239>.
 40. Harapan B, Yoo H. Neurological symptoms, manifestations, and complications associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease 19 (COVID-19). *J Neurol* 2021; 268(9): 3059-3071. <https://doi.org/10.1007/s00415-021-10406-y>.
 41. Moriguchi T, Harii N, Goto J, Harada D, Sugawara H, Takamino J, Ueno M, Sakata H, Kondo K, Myose N, Nakao A, Takeda M, Haro H, Inoue O, Suzuki K, Kubokawa K, Ogihara S, Sasaki T, Kinouchi H, Kojin H, Ito M, Onichi H, Shimizu T, Sasaki Y, Enomoto N, Ishihara H, Furuya S, Yamamoto T, Shimada S. A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2. *Int J Infect Dis* 2020; 94: 55-58. <https://10.1016/j.ijid.2020.03.062>.
 42. Rimmelink M, Mendonça R, D'Haene N, Clercq S, Verocq C, Lebrun L, Lavis P, Racu M, Trépant A, Maris C, Rorive S, Goffard J, DeWitte O, Peluso L, Vincent J, Decaestecker C, Taccone F, Salmon I. Unspecific post-mortem findings despite multiorgan viral spread in COVID-19 patients. *Critical Care* 2020; 24(1): 495. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03218-5>.
 43. Nath A, Smith B. Neurological complications of COVID-19: from bridesmaid to bride. *Arq Neuropsiquiatr* 2020; 78(8): 459-460. <https://doi.org/10.1590/0004-282x20200121>.
 44. Kholin A, Zavadenko N, Nesterovskiy Y, Kholina E, Zavadenko A, Khondkaryan G. Features of neurological manifestations of the COVID-19 in children and adults. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni SS Korsakova* 2020; 120(9): 114. <https://doi.org/10.17116/jnevro2020120091114>.
 45. Parihar J, Tripathi M, Dhamija R. Seizures and epilepsy in times of coronavirus disease 2019 pandemic. *J Epilepsy Res* 2020; 10(1): 3-7. <https://doi.org/10.14581/jer.20002>.
 46. Nikbakht F, Mohammadkhanizadeh A, Mohammadi E. How does the COVID-19 cause seizure and epilepsy in patients? The potential mechanisms. *Mult Scler Relat Disord* 2020; 46: 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2020.102535>.
 47. Tufan A, Avanoglu A, Matucci M. COVID-19, immune system response, hyperinflammation and repurposing antirheumatic drugs. *Turk J Med Sci* 2020; 50(SI-1): 620-632. <https://doi.org/10.3906/sag-2004-168>.
 48. Padda I, Khehra N, Jaferi U, Parmar M. The neurological complexities and prognosis of COVID-19. *SN Compr Clin Med* 2020; 2(11): 2025-2036. <https://doi.org/10.1007/s42399-020-00527-2>.

49. Cherry G, Rocke J, Chu M, Liu J, Lechner M, Lund V, Kumar B. Loss of smell and taste: a new marker of COVID-19? Tracking reduced sense of smell during the coronavirus pandemic using search trends. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2020; 18(11): 1165–1170. <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1792289>.
50. López J, Pérez E, León E, Bazán L, Galnares J, Saráchağa A, Briseño M, May R, Vargas E. Síndrome de Guillain-Barré durante la pandemia de COVID-19: experiencia de un centro de referencia en México. *Rev Neurol* 2021; 73(09): 315. <https://doi.org/10.33588/rn.7309.2021364>.
51. Roland L, Gurrola J, Loftus P, Cheung S, Chang J. Smell and taste symptom-based predictive model for COVID-19 diagnosis. *Int Forum Allergy Rhinol* 2020; 10(7): 832–838. <https://doi.org/10.1002/alr.22602>.
52. Vaira L, Salzano G, Deiana G, de Riu G. Anosmia and ageusia: common findings in COVID-19 patients. *Laryngoscope* 2020; 130(7): 1787. <https://doi.org/10.1002/lary.28692>.
53. Toscano G, Palmerini F, Ravaglia S, Ruiz L, Invernizzi P, Cuzzoni M, Franciotta D, Baldanti F, Daturi R, Postorino P, Cavallini A, Micieli G. Guillain-Barré syndrome associated with SARS-CoV-2. *N Engl J Med* 2020; 382(26): 2574–2576. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2009191>.
54. Sheikh A, Chourasia P, Javed N, Chourasia M, Suriya S, Upadhyay S, Ijaz F, Pal S, Moghimi N, Shekhar R. Association of Guillain-Barre syndrome with COVID-19 infection: an updated systematic review. *J Neuroimmunol* 2021; 355: 2-7. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2021.577577>.
55. Alberti P, Beretta S, Piatti M, Karantzoulis A, Piatti ML, Santoro P, Vigano M, Giovannelli G, Pirro F, Montisano D, Appollonio I, Ferrarese C. Guillain-Barré syndrome related to COVID-19 infection. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2020;7(4): 741. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000741>.
56. Zhao H, Shen D, Zhou H, Liu J, Chen S. Guillain-Barré syndrome associated with SARS-CoV-2 infection: causality or coincidence? *Lancet Neurol* 2020 May;19(5):383–384. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30109-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30109-5).
57. Disser N, de Micheli A, Schonk M, Konnaris M, Piacentini A, Edon D, Toresdahl B, Casey E, Mendias C. Musculoskeletal consequences of COVID-19. *J Bone Joint Surg* 2020; 102(14): 1197–1204. <https://doi.org/10.2106/JBJS.20.00847>.
58. Zhang X, Cai H, Hu J, Lian J, Gu J, Zhang S, Ye C, Lu Y, Jin C, Yu G, Jia H, Zhang Y, Sheng J, Li L, Yang Y. Epidemiological, clinical characteristics of cases of SARS-CoV-2 infection with abnormal imaging findings. *Int J Infect Dis* 2020; 94: 81–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.040>.
59. Brooks S, Webster R, Smith L, Woodland L, Wessely S, Greenberg N, Rubin G. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. *Lancet* 2020; 395(10227): 912–920. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30460-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30460-8).
60. Freeman C, Masur J, Hassankhani A, Wolf R, Levine J, Mohan S. Coronavirus disease (COVID-19) related disseminated leukoencephalopathy: a retrospective study of findings on brain MRI. *AJR Am J Roentgenol* 2021; 216(4): 1046–1047. <https://doi.org/10.2214/AJR.20.24364>.
61. Kremer S, Lersy F, Sèze J, Ferré J, Maa-mar A, Carsin B, Collage O, Bonneville F, Adam G, Martin G, Rafiq M, Geeraerts T, Delamarre L, Grand S, Krainik A, Kremer S, Adam G, Alleg M, Anheim M, Anxionnat R, Ardellier F, Baloglu S, Bapst B, Benzakoun J, Berge J, Bolognini F, Bonneville F, Bornet G, Boulay C, Boulouis G, Boutet C, Brisset J, Caillard S, Carré S, Carsin B, Collange O, Comby P, Constans J, David J, Beaurepaire I, Séze J, Delamarre L, Desal H, Edjlali M, Fabre X, Fafi S, Ferré J, Feuerstein P, Henry M, Forestier G, Gaudemer A, Geeraerts T, Grand S, Hansmann Y, Heintz A, Helms J, Hemmert C, Hmeydia G, Jäger L, Kazémi A, Kerleroux B, Khalil A, Krainik A, Lacalm A, Lecler A, Lecocq C, Lefévre N, Lersy F, Maamar A, Martin G, Matthieu M, Megdiche I, Mertes P, Messié J, Metanbou S, Meyer N, Meziani F, Mutschler V, Nesser P, Oesterlé H, Ohana M, Oppenheim C, Pyatigorskaya N, Rafiq M, Ricolfi F, Saleme S, Schenck M, Schmitt E, Scheneider F, Sebag N, Talla Y, Thouant P, Willaume T, Zhu F, Zorn

- P, Cotton F. Brain MRI findings in severe COVID-19: a retrospective observational study. *Radiology* 2020; 297(2): 242–251. <https://10.1148/radiol.2020202222>.
62. Delorme C, Paccoud O, Kas A, Hesters A, Bombois S, Shambrook P, Bouillet A, Doukhi D, Le Guennec L, Godefroy N, Maatoug R, Fossati P, Millet B, Navarro V, Bruneteau G, Demeret S, Pourcher V, Delorme C, Corvol J, Delattre J, Carvalho S, Sagnes S, Dubois B, Navarro V, Louapre C, Stojkovic T, Idbaih A, Rosso C, Gales A, Millet B, Rohaut B, Bayen E, Dupont S, Bruneteau G, Lehericy S, Seilhean D, Durr A, Lamari F, Houot M, Brochard V, Dupont S, Lubetzki C, Seilhean D, Pradat P, Rosso C, Hoang K, Fontaine B, Naccache L, Fossati P, Arnulf I, Durr A, Carpentier A, Edel Y, Robain G, Thoumie P, Degos B, Sharshar T, Alamowitch S, Apartis E, Peretti C, Ursu R, Dzierzynski N, Bourron K, Belmin J, Oquendo B, Pautas E, Verny M, Delorme C, Corvol J, Delattre J, Samson Y, Leder S, Léger A, Deltour S, Baronnet F, Gales A, Bombois S, Touat M, Idbaih A, Sanson M, Sanson M, Dehais C, Houillier C, Laigle D, Psimaras D, Alenton A, Younan A, Villain N, Gracli D, Amador M, Bruneteau G, Louapre C, Mariani L, Mezouar N, Mangone G, Meneret A, Hartmann A, Tarrano C, Bendetowicz D, Pradat P, Baulac M, Sambin S, Pichit P, Chochon F, Hesters A, Nguyen B, Procher V, Demoule A, Morawiec E, Mayaux J, Faure M, Eweczyk C, Coarelli G, Heinzmann A, Stojkovic T, Masingue M, Bassez G, Navarro V, An I, Worbe Y, Lambrecq V, Debs R, Musat E, Lenglet T, Lambrecq V, Hanin A, Chougar L, Shor N, Pyatiforskaya N, Galanaud D, Leclercq D, Demeret S, Rohaut B, Cao A, Marois C, Weiss N, Gassama S, Guennec L, Degos V, Jacquens A, Similowski T, Morelot C, Rotgé J, Saudreau B, Millet B, Pitron V, Sarni N, Girault N, Maatoug R, Gales A, Leu S, Bayen E, Thivard L, Mokhtari K, Plu I, Goncalves B, Bottin L, Yger M, Ouvrard G, Haddad R, Ketz F, Lafuente C, Oasi C, Megabarne B, Herve D, Salman H, Rametti A, Chalacon A, Herve A, Royer H, Beauzor F, Maheo V, Lagannot C, Minelli C, Fekete A, Grine A, Biet M, Hilab R, Besnard A, Bouguerra M, Goudard G, Houairi S, Al-Youssef S, Pires C, Oukhedouma A, Siuda K, Malkinson T, Agguini H, Said S, Houot M. COVID-19- related encephalopathy: a case series with brain FDG-positron- emission tomography/computed tomography findings. *Eur J Neurol* 2020; 27(12): 2651–2657. <https://doi.org/10.1111/ene.14478>.
 63. Solomon I, Normandin E, Bhattacharyya S, Mukerji SS, Keller K, Ali A, Adams G, Hornick J, Padera R, Sabeti P. Neuropathological features of Covid-19. *N Engl J Med* 2020; 383(10): 989–992. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2019373>.
 64. Coolen T, Lolli V, Sadeghi N, Rovai A, Trotta N, Taccone F, Creteur J, Henrard S, Goffard J, Dewitte O, Naeije G, Goldman S, Tiége X. Early post-mortem brain MRI findings in COVID-19 non-survivors. *Neurology* 2020; 95(14): 2016–2027. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000010116>.
 65. Ameres M, Brandstetter S, Toncheva A, Kabesch M, Leppert D, Kuhle J, Wellmann S. Association of neuronal injury blood marker neurofilament light chain with mild-to-moderate COVID-19. *J Neurol* 2020; 267(12): 3476–3478. <https://doi.org/10.1007/s00415-020-10050-y>.
 66. Kanberg N, Ashton N, Andersson L, Yilmaz A, Lindh M, Nilsson S, Price R, Blennow K, Zetterberg H, Gisslén M. Neurochemical evidence of astrocytic and neuronal injury commonly found in COVID-19. *Neurology* 2020; 95(12): 1754–1759. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000010111>.
 67. Prudencio M, Erben Y, Marquez C, Jansen K, Franco C, Heckman M, White L, Dunmore J, Cook C, Lilley M, Song Y, Harlow C, Oskarsson B, Nicholson K, Wszolek Z, Hickson L, O'Horo J, Hoyne J, Gendron T, Meschia J, Petrucelli L. Serum neurofilament light protein correlates with unfavorable clinical outcomes in hospitalized patients with COVID-19. *Sci Transl Med* 2021; 13(602): 1-10. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abi7643>.
 68. Edén A, Kanberg N, Gostner J, Fuchs D, Hagberg L, Andersson L, Lindh M, Price R, Zetterberg H, Gisslén M. CSF biomarkers in patients with COVID-19 and neurological symptoms. *Neurology* 2020; 96(2): 294-300. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000010977>.
 69. Benjamin L, Paterson R, Moll R, Pericleous C, Brown R, Mehta P, Athauda D, Ziff O,

- Heaney J, Checkley A, Houlihan C, Chou M, Heslegrave A, Foulkes A, Mummery C, Lunn M, Keddie S, Spyer M, Mckinnon T, Hart M, Carletti F, Jäger H, Manji H, Zandi M, Werring D, Nastouli E, Simister R, Solomon T, Zetterberg H, Schott J, Cohen H, Efthymiou M. Antiphospholipid antibodies and neurological manifestations in acute COVID-19: a single-centre cross-sectional study. *EClinicalMedicine* 2021; 39: 2589-5370. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101070>.
70. Alexopoulos H, Magira E, Bitzogli K, Kafasi N, Vlachoyiannopoulos P, Tzioufas A, Kotanidou A, Dalakas M. Anti-SARS-CoV-2 antibodies in the CSF, blood-brain barrier dysfunction, and neurological outcome. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2020; 7(6): 893. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000893>.
71. Domingues R, Mendes M, Moura L, Sabino E, Salarini D, Claro I, Santos D, Jesus J, Ferreira N, Romano C, Soares C. First case of SARS-COV-2 sequencing in cerebrospinal fluid of a patient with suspected demyelinating disease. *J Neurol* 2020; 267(11): 3154-3156. <https://doi.org/10.1007/s00415-020-09996-z>.
72. Romoli M, Jelcic I, Bernard R, García D, Mancinelli L, Akhvlediani T, Monaco S, Taba P, Sellner J. A systematic review of neurological manifestations of SARS-CoV-2 infection: the devil is hidden in the details. *Eur J Neurol* 2020; 27(9): 1712-1726. <https://doi.org/10.1111/ene.14382>.
73. Zhou H, Lu S, Chen J, Wei N, Wang D, Lyu H, Shi C, Hu S. The landscape of cognitive function in recovered COVID-19 patients. *J Psychiatr Res* 2020; 129: 98-102. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2020.06.022>.
74. Lamontagne S, Winters M, Pizzagalli D, Olmstead M. Post-acute sequelae of COVID-19: evidence of mood & amp; cognitive impairment. *Brain Behav Immun Health* 2021; 17: 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2021.100347>.
75. Miskowiak K, Johnsen S, Sattler S, Nielsen S, Kunalan K, Rungby J, Lapperre T, Porsberg C. Cognitive impairments four months after COVID-19 hospital discharge: pattern, severity and association with illness variables. *Eur Neuropsychopharmacol* 2021; 46: 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2021.03.019>.
76. Becker J, Lin J, Doernberg M, Stone K, Navis A, Festa J, Wisnivesky J. Assessment of cognitive function in patients after COVID-19 infection. *JAMA Netw Open* 2021; 4(10): 1-4. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.30645>.
77. Davis H, Assaf G, McCorkell L, Wei H, Low RJ, Re'em Y, Redfield S, Austin J, Akrami A. Characterizing long COVID in an international cohort: 7 months of symptoms and their impact. *EClinicalMedicine* 2021; 38: 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101019>.
78. Alemanno F, Houdayer E, Parma A, Spina A, Forno A, Scatolini A, Angelone S, Bruggiera L, Tettamanti A, Beretta L, Iannaccone S. COVID-19 cognitive deficits after respiratory assistance in the subacute phase: A COVID-rehabilitation unit experience. *PLoS One* 2021; 16(2): 0246590. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246590>.
79. Tavares J, Souza A, Borges J, Oliveira D, Siqueira J, Sobreira M, Braga P. COVID-19 associated cognitive impairment: a systematic review. *Cortex* 2022; 152: 77-97. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2022.04.006>.
80. Pinzon R, Wijaya V, Jody A, Nunsio P, Buana R. Persistent neurological manifestations in long COVID-19 syndrome: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Public Health* 2022; 15(8): 856-869. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2022.06.013>.
81. Mahdizade M, Mohamadi M, Shadab N, Abbasimoghaddam S, Shekartabar A, Heidary M, Khoshnood S. Neurological manifestations in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Lab Anal* 2022; 36(5): 1-13. <https://doi.org/10.1002/jcla.24403>.
82. Houben S, Bonnechère B. The impact of COVID-19 infection on cognitive function and the implication for rehabilitation: a systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2022; 19(13): 7748. <https://doi.org/10.3390/ijerph19137748>.
83. Domingues R, Leite M, Senne C. Cerebrospinal fluid analysis in patients with COVID-19-associated central nervous system manifestations: a systematic review.

- Arq Neuropsiquiatr 2022; 80(3): 296–305. <https://doi.org/10.1590/0004-282x-amp-2021-0117>.
84. **Araújo S, Araújo C, Silva R, Oliveira L, Souza N, Miranda D, Simoes A.** Imaging markers of neurologic damage in COVID-19: a systematic review. *Curr Med Chem* 2022; 29. <https://doi.org/10.2174/0929867329666220701124945>.
85. **Vizcaino G.** Síndrome trombocitopénico inmune trombótico posvacunación. ¿Causalidad o casualidad? Especial referencia a las vacunas Astra-Zeneca COVID-19 (Vaxzevria®). *Gaceta Médica De Caracas*, 2021; 129(3), 665–675. Recuperado a partir de http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_gmc/article/view/22888.
86. **Esparza J, Vizcaino G, Pujol FH.** Trombosis asociada a vacunas contra la COVID-19 basadas en vectores adenovirales: implicaciones para la vacunación en Venezuela. *CientMed* 2021; 2(28):01-07. doi.org/10.47449/CM.2021.2.7.
87. **Generoso JS, Barichello de Quevedo JL, Cattani M, Lodetti BF, Sousa L, Collo del, A, Diaz, Dal-Pizzol, F.** Neurobiology of COVID-19: how can the virus affect the brain? *Braz J Psychiatry* 2021;43(6):650-664. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2020-1488>.

Primera década de la revista Investigación Clínica en la “Web”.

Enrique Torres-Guerra

Sección de Investigaciones Hematológicas. Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Négrette”. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. Correo electrónico: enrique.torres.guerra@gmail.com
ORCID 0000-0002-5594-8398

Palabras clave: Investigación Clínica; periodo 2011-2020; análisis de revista.

La revista Investigación Clínica, es un medio informativo científico, que fue fundada hace más de 60 años¹. Con el objetivo de analizar su proyección en el ámbito científico contemporáneo, evaluamos en su “web” oficial, el período comprendido entre enero del 2011 y diciembre del 2020, en forma general y de manera separada en dos quinquenios, por ser dos períodos con características muy singulares, que influyeron o marcaron tendencias en los ámbitos mundial y de Venezuela, país sede de la revista, con impacto económico en el área de investigación, lo cual llevó a buscar alternativas viables para continuar con la misión de divulgar el conocimiento². De esta forma, pudimos evaluar la frecuencia de visitas de los usuarios de diferentes países, así como la difusión de la revista en el mundo. Si los comparamos con los resultados obtenidos en el primer año que correspondió al 2012³, podemos inferir que la proyección internacional ha tenido un buen comportamiento tanto a nivel de usuarios como de países que la visitan.

En el periodo estudiado, Investigación Clínica ha sido visitada por 18.513 individuos, provenientes de 104 países de los cinco continentes. Como era de esperar, el país que realizó más visitas fue Venezuela, seguido por México, Estados Unidos, España y Ecuador (5.081, 4.265, 1.389, 1.262 y 1.134, respectivamente) (Fig. 1). La distri-

bución etaria más frecuente entre los usuarios, fue entre 25 y 34 años, seguida por las personas entre 35 y 44 años (Fig. 2). En relación al sexo, predominó el sexo femenino con un 57,6% de visitas (Fig. 2). Al analizar por subcontinentes, América del Sur fue el área predominante, seguida de América Central y América del Norte (Fig. 3).

En el primer quinquenio (2011 al 2015), se encontraron resultados muy similares a los del análisis global; hubo visitas de usuarios de 93 países, y en la distribución, Venezuela ocupó de nuevo el primer lugar, seguida por México, Estados Unidos, España y Colombia (3.366, 3.103, 746, 671 y 368 respectivamente) (Fig. 4). En el segundo quinquenio (2016 al 2020), la red fue visitada por usuarios de 86 países con el siguiente orden de frecuencia: Venezuela, seguida por México, Ecuador, Estados Unidos y España (1.715, 1.162, 1.024, 643 y 591 respectivamente) (Fig. 5). A nivel local, en Venezuela, se encontró una distribución geográfica similar en ambos quinquenios, el primer lugar lo ocupó el Estado Zulia, lugar de origen de la Revista, seguido por el Distrito Federal, los Estados Carabobo y Mérida y en forma alterna, los Estados Aragua y Táchira (Figs. 6 y 7).

Con los datos anteriores se puede concluir que la experiencia con el uso de la “Red” o la “Web”, ha sido muy positiva, al lograr contactos y compartir nuestra Revista

con otras comunidades científicas, tal como se puede observar con la aparición de autores y trabajos procedentes de países como México, Ecuador y Colombia, en América, y otros llegados de países lejanos como Irak, Siria, Irán, y en los últimos tiempos, China.

Es importante recordar que la “Web” de la revista “Investigación Clínica”, es una Red científica que presenta un enlace en: <https://sites.google.com/site/revistainvestigacionesclinicas/pagina-de-inicio>) para su ubicación directa y su mejor acceso.



Fig. 1. Resultados a nivel global de visitas durante el periodo enero 2011 a diciembre 2020.

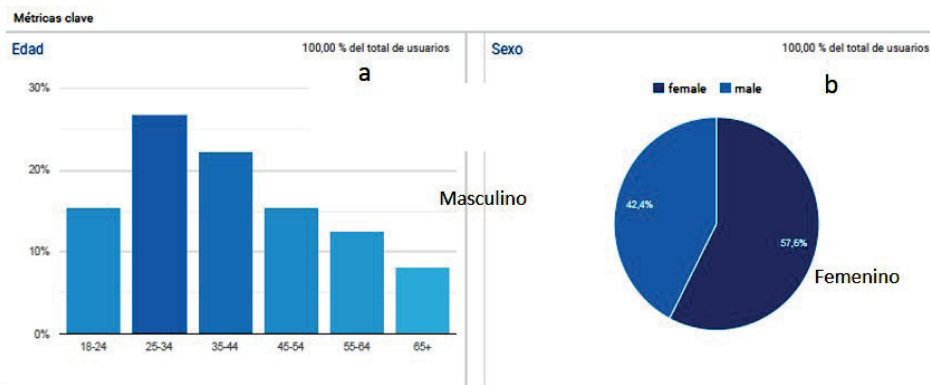


Fig. 2. Resultados a nivel global de visitas según edad y sexo durante el periodo enero 2011 a diciembre 2020.

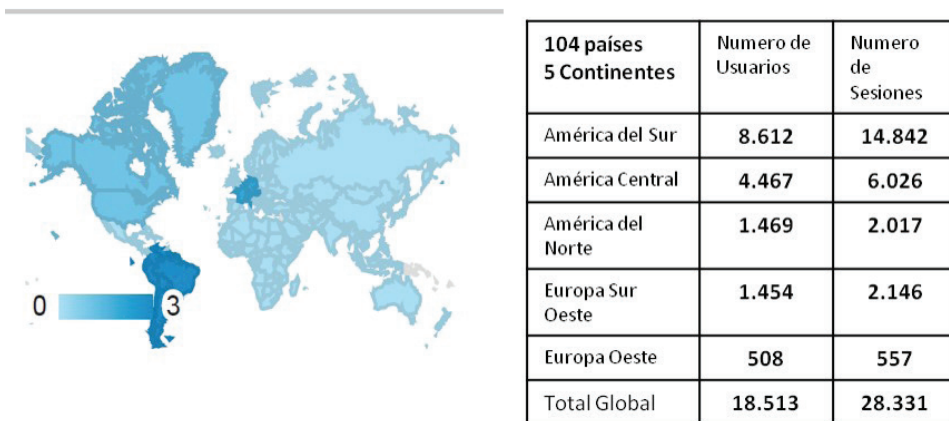


Fig. 3. Resultados a nivel de continentes de visitas durante el periodo enero 2011 a diciembre 2020.



Fig. 4. Resultados a nivel global de visitas durante el periodo enero 2011 a diciembre 2015.

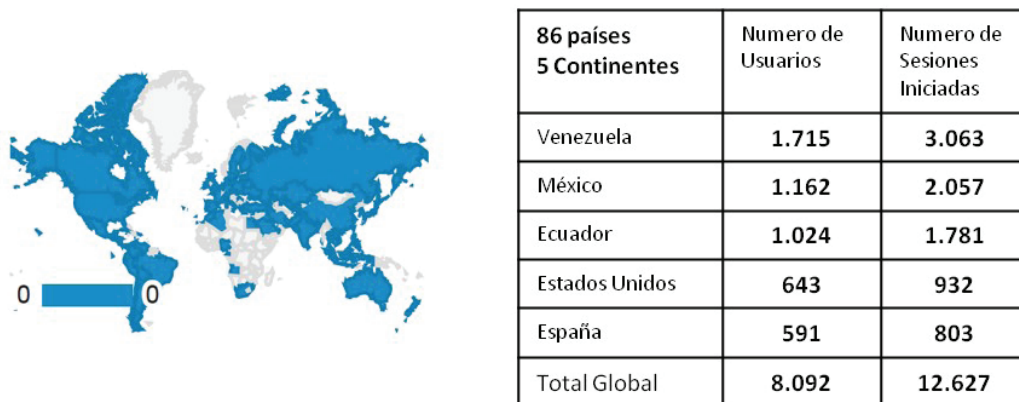


Fig. 5. Resultados a nivel global de visitas durante el periodo enero 2016 a diciembre 2020.

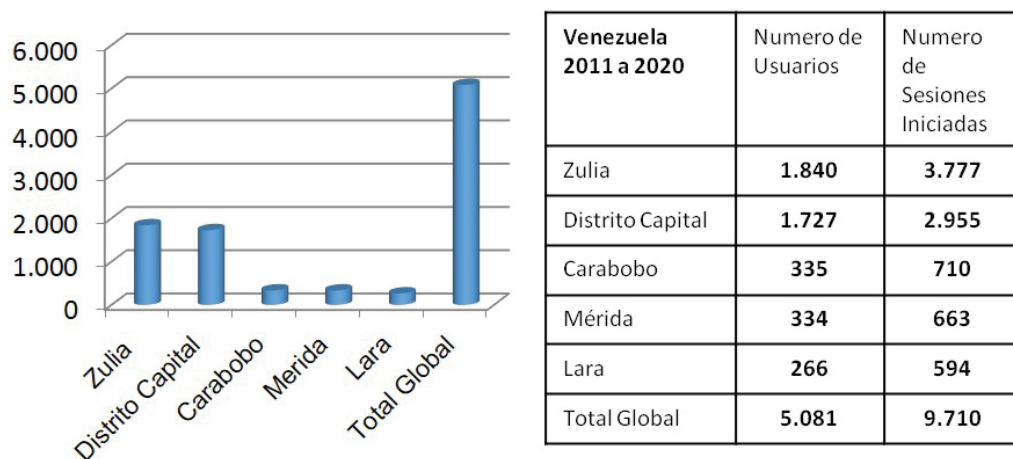


Fig. 6. Resultados de visitas en Venezuela durante el periodo enero 2011 a diciembre 2020.

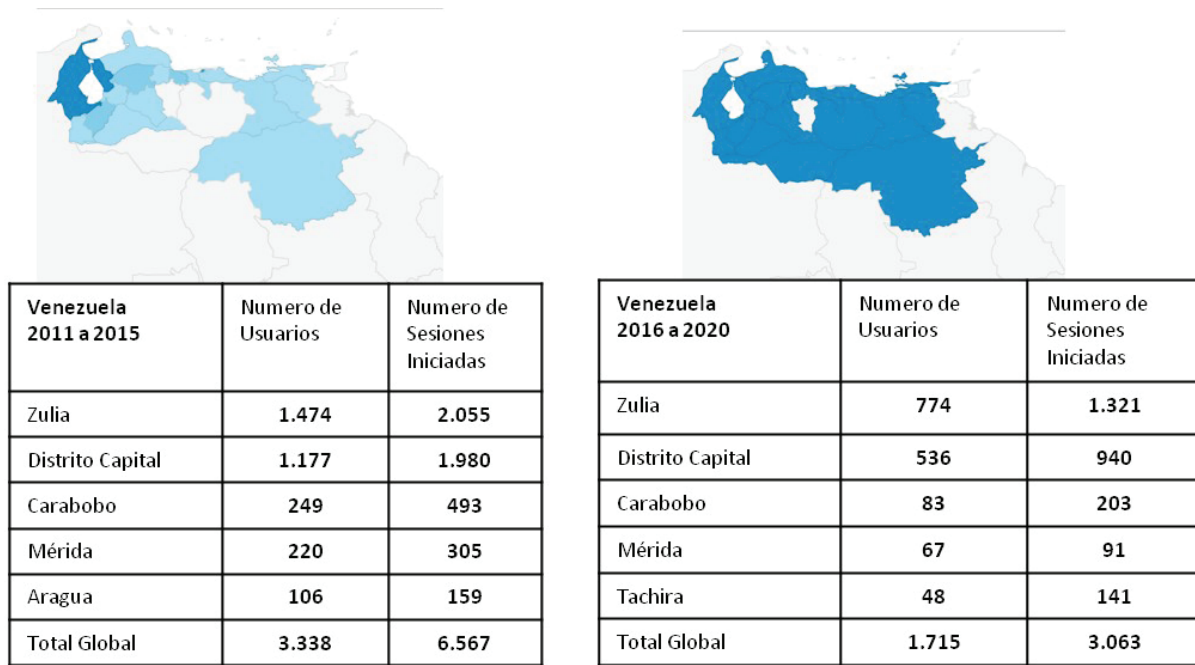


Fig. 7. Resultados de visitas en Venezuela durante los periodos enero 2011-diciembre 2015 y enero 2016-diciembre 2020.

First decade of the journal Investigación Clínica on the “Web”

The Investigación Clínica journal is a scientific information medium, which was founded more than 60 years ago. In order to analyze its projection in the current scientific field, we evaluated on its official “website”, the period of time between January 2011 and December 2020, in a general way and separately in two five-year periods. Investigación Clínica has been visited by 18,513 individuals from 104 countries on five continents. As expected, the country that made the most visits was Venezuela, followed by Mexico, the United States, Spain and Ecuador (5,081, 4,265, 1,389, 1,262 and 1,134, respectively). In the first five-year period (2011 to 2015), very similar results were found to those of the global analysis; there were visits from users from 93 countries, and in the distribution, Venezuela again ranked first, followed by Mexico, the United States, Spain and Colombia (3,366, 3,103, 746, 671 and 368 respectively). In the second five-year period (2016 to 2020), the network was visited by users from 86 countries in the following order of frequency: Venezuela, followed by Mexico, Ecuador, the United States and Spain (1,715, 1,162, 1,024, 643 and 591 respectively). The experience with the use of the “Network” or the “Web” has been very positive, in making the Journal known in distant countries, as can be seen with the appearance of authors and papers from countries such as Mexico, Ecuador and Colombia, in America and others who come from distant countries such as Iraq, Syria, Iran, and in recent times, China.

Recibido: 07-10-2022 Aceptado: 15-12-2022

REFERENCIAS

1. **Ryder E.** Investigación Clínica resiste los embates de la situación política, económica y social en Venezuela. Invest Clin 2018; 59(1): 1-4, 2018 <https://doi.org/10.22209/IC.v59n1a00>.
2. **Ryder E.** 60 Aniversario de la revista Investigación Clínica. Actualización y logros. Invest Clin 2020; 61 (2):101-103. <https://doi.org/10.22209/IC.v61n2a00>.
3. **Torres-Guerra E.** Estamos en la Web Invest Clin 2012; 53(1): 1 – 2.

Instrucciones a los Autores

Investigación Clínica publica Trabajos Originales, Revisiones y Reporte de Casos Clínicos en español e inglés, que contribuyan al avance del conocimiento en biología humana o animal. También incluye una sección de “Cartas al Editor”.

Envío del manuscrito

El manuscrito (Word para Windows®), con su correspondiente lista de verificación y acompañado de una carta de presentación al editor, debe ser enviado por correo electrónico a las direcciones riclinicas@gmail.com y elenaryder@gmail.com. Las Tablas y las Figuras, si las hubiese, deben estar al final del trabajo. Además del manuscrito, se pueden incluir los nombres de tres posibles árbitros y sus respectivas direcciones institucional y electrónica. El Comité Editorial se reserva el derecho de decidir si utiliza alguno de los revisores sugeridos. Todo lo referente a la correspondencia, incluidos la opinión de los árbitros, los requerimientos producto de la revisión del trabajo y la notificación de la decisión del Comité Editorial, será comunicado por correo electrónico. La correspondencia de seguimiento del trabajo debe incluir el código asignado por la revista en la carta de recepción.

Carta de presentación

El manuscrito debe estar acompañado de una carta firmada por todos los autores, donde manifiestan que han participado activamente en la ejecución del trabajo, que este no ha sido publicado con anterioridad y que conocen que se está enviando para su publicación a *Investigación Clínica* y que no ha sido enviado a otra Revista para su con-

sideración. La autoría debe estar basada en: 1) Contribución sustancial a la concepción y diseño del estudio, obtención de datos o su análisis e interpretación, 2) Revisión crítica del artículo y 3) Aprobación de la versión final a ser publicada. La obtención de fondos, la recolección de datos o la supervisión del grupo de investigación, por sí solos, no justifican la autoría. Aquellos miembros del grupo que no cumplan con los criterios para ser autores, deben ser mencionados en la sección de Agradecimientos. El orden de aparición de los autores no se podrá modificar una vez que el trabajo haya sido aceptado. En la carta de presentación, es imprescindible colocar: financiamiento, contribución de cada uno de los autores y su número ORCID, y si hubiere algún conflicto de competencia.

Sistema de Arbitraje

Para el proceso de arbitraje se utilizará la vía electrónica. Todos los trabajos serán sometidos a la consideración del Comité Editorial de la Revista, el cual decidirá si deben ser enviados a arbitraje, o si se rechazan por no cumplir las normas editoriales o no tener la calidad suficiente. El autor de correspondencia recibirá una carta de recepción con un código numérico.

El arbitraje de Trabajos Originales y Reporte de Casos, será realizado por dos expertos en el área objeto de la comunicación y en el caso de las Revisiones, solo por uno. Los árbitros tendrán un plazo máximo de dos meses para enviar su respuesta. Si las opiniones de los dos árbitros coinciden, el Comité Editorial podrá tomar una decisión; en caso de discrepancia, esperará la opinión de un tercer árbitro. Si la situación lo amerita,

se podrán solicitar otras opiniones. El nombre de los árbitros y el de los autores del trabajo, serán estrictamente confidenciales; la Revista sigue la evaluación doble ciego. Los autores recibirán, tanto en el caso de modificaciones, como en el de rechazo, las opiniones completas respecto al trabajo. El plazo para responder a las recomendaciones de los árbitros, tendrá un máximo de dos meses, pasados los cuales el trabajo será rechazado o readmitido como nuevo.

Costo de la publicación. Todo trabajo aceptado tendrá un costo por concepto de Manejo Editorial.

Normas Editoriales

Los trabajos deben estar escritos a doble espacio, con amplios márgenes y numeración de las páginas. En Word for Windows y preferiblemente en Times New Roman 12.

Los **Trabajos Originales**, las **Revisiones** y los **Reportes de Casos**, deben ser contribuciones inéditas de importancia para el avance del conocimiento en el tema objeto de estudio. Deben incluir en la primera página:

El **Título del trabajo** con letra mayúscula al inicio o cuando se trate de nombres propios; luego el primer nombre, la inicial del segundo y el apellido completo de los autores; si usaran dos apellidos deberán separarlos con un guión. El nombre de cada autor llevará superíndices de números consecutivos que correspondan a cada una de las instituciones a las que están afiliados. No repetir si pertenecen a la misma institución, solo colocar el superíndice respectivo. No colocar títulos profesionales.

Un **Título corto** de no más de 75 caracteres, en el idioma en que fue realizado el manuscrito.

Palabras clave. En renglón aparte, se escribirán de tres a seis palabras clave en español y en inglés, evitando repetir palabras que se encuentren en el título.

Autor de correspondencia. Colocar Nombre completo, sin títulos académicos, dirección institucional, ciudad, país, teléfono y correo electrónico.

A continuación, se presentarán un **Resumen** en español y el título y el resumen (**Abstract**), ambos en inglés. Si el autor no está capacitado en el idioma inglés, es importante que consulte a un especialista en lengua inglesa, antes de enviar los trabajos o resúmenes en ese idioma. Se requiere el uso del inglés americano. Un trabajo puede ser rechazado, si requiere de muchas correcciones lingüísticas.

Los **Trabajos Originales**, estarán constituidos por: Resumen en español e inglés, Introducción, Material y Métodos o Pacientes y Métodos (si el trabajo se refiere a seres humanos), Resultados, Discusión, Tablas, Figuras, Agradecimientos y Referencias. Las Tablas y Figuras deberán presentarse aparte del manuscrito. La Revista no tiene una sección de Conclusiones, sino que estas estarán incluidas al final de la Discusión.

El **Resumen**, debe constar de un máximo de 250 palabras y establecer los objetivos, la metodología, los hallazgos originales y las conclusiones basadas en los resultados presentados. No debe contener referencias ni ser estructurado. Al final se debe incluir una pequeña conclusión. Se deben evitar las abreviaturas y si son necesarias, se deben definir en la primera mención.

El **Abstract** debe estar redactado en inglés americano y cumplir las mismas indicaciones del Resumen.

Introducción. Debe incluir en primer lugar, antecedentes y generalidades sobre el tema objeto del estudio, hallazgos controversiales, e interrogantes y aportaciones propias, y finalmente el objetivo principal de la investigación.

Material y Métodos. En esta sección se debe informar sobre las características y tamaño de la muestra. En los estudios con humanos deben incluir el consentimiento informado y señalar los criterios de inclusión y exclusión. En estos estudios se debe incluir en la descripción del Material utilizado, la aprobación por parte del Comité de Ética de la institución donde se realizó la investigación y seguir los lineamientos de la Declaración

ción de Helsinki de 1975, revisada en 2013. Se debe evitar el uso de iniciales o números de Historia de los Hospitales y no se aceptarán fotografías del rostro del paciente sin su consentimiento escrito. Aquellos estudios que involucren animales, también deben seguir el Código de Ética correspondiente, que cumpla con los estándares internacionales establecidos para el uso, cuidado y tratamiento de los animales de laboratorio. Los procedimientos deben ser descritos con suficiente detalle para permitir que el trabajo pueda ser duplicado. Los métodos no originales deberán tener su referencia y los equipos y reactivos utilizados deben ir acompañados del nombre y país de la compañía proveedora.

Análisis estadístico. Se debe informar cual fue la plataforma usada, mencionando la versión y las pruebas estadísticas empleadas.

Los **Resultados**, deben ser presentados en tiempo pretérito, en una secuencia lógica en el texto, Tablas y Figuras. Solo se deben resaltar las observaciones importantes. Los valores de laboratorio y las unidades deben ser expresados en el Sistema Internacional (SI). No repetir en el texto lo mostrado en las Figuras o Tablas, solo expresarlo. Las Tablas y Figuras se presentarán en hojas aparte y no en fotografías. La numeración de las Tablas y Figuras será en caracteres arábigos. No colocar en los títulos siglas que no hayan sido previamente identificadas.

Discusión. Mencionar los hallazgos principales del estudio, luego comparar los resultados con otros de la literatura, sus aportaciones y fortalezas, mencionar las limitaciones del trabajo, sugerir delineamientos de futuras investigaciones y terminar con una conclusión acorde con los resultados.

Las **Revisiones Narrativas** deben estar escritas por especialistas en el campo objeto de las mismas y contener las contribuciones del autor, ya sea en las referencias o con una discusión del tema revisado. El número máximo de autores es de cuatro. No se aceptarán revisiones que consistan meramente de una descripción bibliográfica, sin incluir un análisis. El cuerpo de las revisiones

es libre, aunque es conveniente subdividirlo en secciones. Las **Revisiones Sistemáticas** y **Metaanálisis** deben seguir las indicaciones internacionales establecidas por PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) o por cualquier otro método similar.

Los **Reportes de Casos** se refieren a la presentación de casos clínicos poco frecuentes en la práctica médica. Deben incluir una breve introducción sobre la patología a ser presentada, la descripción del caso y una discusión con el apoyo bibliográfico correspondiente. Limitar la discusión a lo más notable del caso.

Las **Cartas al Editor**, deben ser comentarios sobre publicaciones recientes en la revista y en lo posible, no deben exceder de dos páginas, incluidas las referencias.

Tablas. Las Tablas deben ocupar una página cada una y estar numeradas en caracteres arábigos. Deben contener un título descriptivo escrito centrado. Las columnas no deben separarse con líneas. Las notas referentes a lo expresado en el cuerpo de la Tabla, deben ser escritas al pie de la misma, precedidas de los símbolos correspondientes. La revista no acepta la expresión "Fuente de información", cuando se refiere a resultados presentados en el mismo artículo, solo si provienen de otro material. Si el artículo está escrito en español, los números decimales se deben separar con una coma y si está escrito en inglés, con un punto.

Figuras. Para las Figuras se deben seguir los siguientes puntos generales: cada figura debe ser enviada en un archivo separado, en el programa donde fue generada (por ejemplo GraphPad Prism®). El número de la Figura debe ser arábigo y estar de acuerdo con la secuencia en el texto. Debe asegurarse que el tipo de letra y el tamaño, sean uniformes. Todas deben tener como mínimo 300dpi. Las figuras en color deben de ser enviadas en formato RGB (sigla en inglés de *red*, *green*, *blue*). Las leyendas de las figuras se deben enviar por separado, con suficiente información para no tener que recurrir al texto. Las imágenes radiográficas no deben contener

leyendas que identifiquen al paciente. Las Fotografías pueden ser en blanco y negro o en color, deben tener un contraste adecuado para su reproducción y estar en formato JPG o TIF, con las siguientes condiciones: las fotografías en color o en gradaciones de gris, deben tener un mínimo de 300 dpi. En el caso de las microfotografías electrónicas, debe extremarse el cuidado de la nitidez de los hallazgos reportados y señalarlos por medio de símbolos. También se debe indicar el aumento utilizado, de preferencia una barra indicando el valor que representa (micras, milimicras, nanómetros etc.). Las leyendas no deben estar incorporadas a la fotografía y estas deben presentarse en página aparte, en forma lo suficientemente explicativa, sin tener que acudir al texto, y cuidar la descripción si se trata de la figura a color o en tonos de grises. La Revista no aceptará fotografías o figuras tomadas de otras revistas sin la respectiva autorización.

Referencias. Todas las referencias deben estar en el texto con un número en superíndice y citadas por orden de aparición, según las normas internacionales “*Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals*”, actualizadas en Diciembre de 2021 (<http://www.icmje.org>); es decir, primero el apellido con la letra inicial en mayúscula, e iniciales del nombre, también en mayúscula (sin puntos), de todos los autores. Los nombres de los autores deben ir en negritas y separados entre sí por comas. No se aceptarán los términos “y col.” o “*et al.*” en la sección de las referencias.

El título completo del trabajo tendrá mayúsculas solo al inicio y en los nombres propios. El título de la revista debe ser abreviado de acuerdo al Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov>), seguido del año de publicación; volumen; y primera y última páginas, separadas por un guión. A seguidas colocar el doi de dicho trabajo. No se aceptarán como referencias, observaciones no publicadas, comunicaciones personales o trabajos enviados a publicación; sin embargo, estos podrán aparecer citados entre

paréntesis en el texto. Si el autor es una organización, se coloca el nombre de la misma como referencia.

Ejemplos:

Referencias de publicaciones periódicas: Jaspe RC, Sulbaran Y, Hidalgo M, Loureiro CL, Moros ZC, Garzaro D, Rangel HR, Pujol FH. A simple method for detection of mutations in amino acid 452 of the Spike protein of SARS-CoV-2 using restriction enzyme analysis. *Invest Clin* 2021; 62(4): 371-377. <https://doi.org/10.22209/IC.v62n4a07>.

Referencias de libros: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of neural science*. New York: McGraw Hill; 2001, p 1227-1246.

Artículos en libros: Molina-Vilchez R, Diez-Ewald M, Fernández G. Anemia y Embarazo. En: Zigelboim I, Guariglia D, Eds. *Clínica Obstétrica*. Caracas: Disinlimed; 2000. P 570-577.

Memorias de Congresos: **Metabolic benefits of lifestyle intervention in the clinical setting: a pilot study in Latinos with prediabetes form Venezuela, South América.** Victoria Stepenka, Yoleida Rivas, Juan Casal, Roberto Gutiérrez, Elena Ryder, Hermes Florez. 70th. Scientific Sessions. American Diabetes Association. 25-29 junio, 2010, Orlando, USA.

Tesis: Leon-N I. Caracterización de aislamientos del complejo *Sporothrix* spp. Provenientes de diferentes regiones de Venezuela [Tesis de Maestría] Caracas: IVIC; 2013.

Revista en formato electrónico: Calvo B, Melo A, Perozo A, Hernández M, Francisco E, Hagen F, Meis J, Colombo J. First report of *Candida auris* in America: clinical and microbiological aspects of 18 episodes of candidaemia. *J Infect* 2016 [citado, 2017 febrero 10] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.inf.2016.07.008>.

Limitar a un máximo de 50 referencias para los artículos originales y 100 para las Revisiones Narrativas y Sistemáticas o Metanaálisis.

Se recomienda revisar cuidadosamente el último número de la Revista, como guía para la preparación del manuscrito (<http://sites.google.com/site/revistainvestigacionesclinicas>).

Lista de Verificación

- Carta firmada por todos los autores, donde se indique el autor de correspondencia, la participación de cada autor en la elaboración del trabajo, y se manifieste que este no ha sido publicado con anterioridad, ni está siendo enviado a otra revista para publicación.
- Páginas numeradas en forma secuencial.
- Título en español.
- Título en inglés.
- Título corto en el lenguaje principal utilizado en el manuscrito.
- Lista de Autores con nombres completos, sin títulos profesionales.
- Resumen no estructurado en inglés y español de no más de 250 palabras, que incluya introducción, procedimientos básicos, resultados y conclusión.
- Introducción sucinta y referida al objeto de estudio.
- Material y Métodos o Material y Pacientes, descritos con precisión y con referencias adecuadas.
- Especificación del análisis estadístico (cuando se requiere).
- Resultados presentados en forma clara y en orden lógico sin discusión de los mismos.
- Discusión basada en los hallazgos obtenidos.
- Referencias presentadas en orden de aparición, citadas en el texto y de acuerdo a las especificaciones de la revista.
- No se aceptan comunicaciones personales, ni presentaciones en congresos que no hayan tenido resumen.
- Tablas con las notas en la parte inferior.
- Las ilustraciones y fotografías de acuerdo a las especificaciones de la revista.
- Leyendas de las ilustraciones, figuras y fotografías en páginas separadas.
- Número ORCID de todos los autores.
- Fuente de financiamiento.
- Participación de los autores en el trabajo.
- Conflicto de competencia.

Instructions to Authors

Investigación Clínica publishes Original Research Articles, Reviews and Clinical Case Reports in Spanish and English that represent a significant contribution to the advance of knowledge in human or animal biology. It also includes a section of Letters to the Editor.

Send the manuscript (in Word for Windows ®), with its corresponding Check List and accompanied by a Cover Letter to the Editor, by e-mail to the following addresses: riclinicas@gmail.com / elenaryder@gmail.com. The Tables and Figures, if any, should be placed at the end of the manuscript text and must be sent as individual files (one per each table and figure). The name of three possible referees, with their postal and e-mail addresses should be submitted together with the manuscript. The Editorial Board reserves the right to decide if any of them will be chosen as reviewers. Everything concerning the correspondence, including the opinion of the referees, the requirements resulting from the manuscript review and notification of the decision of the Editorial Committee, will be conducted by e-mail. The Paper follow-up correspondence must include the code assigned by the Journal in the receipt letter.

Cover Letter

The manuscript must be accompanied by a letter, addressed to the Editor, in which all authors accept, with their signature, that have actively participated in the development and execution of this work, and that the manuscript is being sent for consideration to this journal. In this letter, the authors must state that the work submitted is original, has not been published previously,

and that it is not under consideration for publication. Authorship must be based in: 1) A substantial contribution to the concept and design of the study, acquisition of data or analysis and interpretation of the data; 2) Drafting or critically reviewing the manuscript; and 3) Final approval of the version of the article to be published. Raising funds, collecting data or general supervision of the research group, by themselves, do not justify authorship. Those members of the group that do not meet the authorship criteria should be recognized, with their authorization, in the **Acknowledgments** section. The author must sign a form specifying the extent of their participation in the work. The order of authorship credited should be a joint decision of the co-authors. The order of appearance of the authors, and the inclusion or exclusion of any of them, cannot be modified once the work has been accepted. In the cover letter, it is essential to include source of financing, participation of each of the authors using initials and the ORCID number (ORCID iD) of each one, and if there is any conflict of competence.

Peer-review Process

This process will be realized through electronic means. All manuscripts submitted for publication are considered by the Editorial Board of the Journal, which decides if they should be sent to review, or should be rejected because the manuscript does not meet the minimal editorial requirements or if it is not of sufficient quality to be published in the journal. The corresponding author will receive a receipt letter with a numerical code. The Original Research Articles and Clinical Case Reports will be reviewed by two

experts in the area object of the communication, and only one, in the case of Review Articles. The name of the authors and reviewers are strictly confidential; the Journal follows the double blind review process. The reviewers will be given a maximum of a two-month period to send their evaluations. If the opinions of two of them coincide, the Editorial Board could accept these evaluations. In case of discrepancy, it will wait for a third opinion or it may even require the evaluation of additionally appointed referees. The authors will receive the complete reviewer's evaluations, both in cases of manuscript modifications, or in cases of rejections. The Editorial Committee will give the authors a two-month period to respond to the reviewer's opinions or to make the suggested modifications. If the authors take more time to answer than the stipulated, the manuscript will be rejected or considered as a new submission.

Publication Fees. A nominal publication fee will be charged upon acceptance of a paper, to contribute to the cost of Editorial Handling.

Editorial Norms

Manuscripts should be submitted in Microsoft Word® (.doc/.docx) format, preferably in Times New Roman 12 font, must be double-spaced throughout, all pages should be numbered and with ample margins in both sides.

Original Research Articles, Clinical Case Reports and Review Articles must consist of original contributions of importance to the advance of knowledge in the subject matter of the study. They must include in the first page the manuscript's:

The Title of the work, which must be with a capital letter at the beginning or in the case of proper names; then place the authors with their first name, the middle initial and the complete last name; if they use two surnames they must separate them with a hyphen. The name of each author will have superscripts of consecutive numbers that correspond to each of the institutions of af-

filiation. Do not repeat if they belong to the same institution, just place the respective superscript. Do not use professional titles. The author of the correspondence, his full name, without academic titles, institutional address, city, country, telephone and email must be indicated.

A short Title of no more than 75 characters, in the language in which the manuscript was written.

Keywords. In a separate line, three to six keywords will be written in Spanish and English, avoiding repeating words found in the title.

This should be followed by a summary in Spanish and the Title and Abstract, both in English. If the full text of the paper is written in English or as with the English abstract, it is important to consult with an expert if the author is not proficient in the language. A manuscript could be rejected if it requires considerable language modifications.

Original Research Articles, should be structured as follows: Abstracts in Spanish and English, Introduction, Material and Methods or Patients and Methods (if the research is related to humans), Results, Discussion, Tables, Figures, Acknowledgments and References. Tables and Figures must be presented separately from the manuscript. The Journal does not utilize a Conclusions section and these should be part of the end of the Discussion.

Abstract, must be written in American English and should establish the objectives of the study, the methodology used, the original observations and the conclusions based on the results presented. It must not contain references, nor be structured and should not exceed the limit of 250 words. A brief conclusion must be presented at the end of the abstract. Avoid the use of abbreviations and if necessary, they should be defined at the first mention in the text. The summary in Spanish must comply with the same indications as the Abstract in English.

Introduction: it should include adequate background and general information

about the subject under study, controversial findings, and own questions and contributions, and finally the main objective of the investigation.

Material and methods: this section should report on the characteristics and size of the sample. In studies with humans, they must include informed consent and indicate the inclusion and exclusion criteria. Human studies should include in the description of the Material used, the approval of the Ethics Committee of the institution where the study was realized, following the principles outlined in the Declaration of Helsinki of 1975 and revised in 2013. The use of names, initials or the clinical history number should be avoided. Photographs showing the face of patients will not be accepted without a signed statement of informed consent. Those studies involving animals must follow the corresponding ethics code, according to the established international standard guidelines for the use, care and treatment of laboratory animals. Procedures should be described with sufficient detail as to allow the work to be replicated. Non-original methods must have their reference and the equipment and reagents used must be accompanied by the name and country of the supplying companies.

Statistical analysis. The software used must be reported, mentioning the version and the statistical tests used.

Results, should be presented in past tense following a logical sequence in the Text, Tables and Figures. Laboratory values and units must be expressed in the International System of Units (SI). The information presented in Tables and Figures should not be repeated in the text. Only the important observations must be detailed.

Discussion, must emphasize on the new and important findings of the study and compare the results obtained with those previously reported on other investigations. It should present the new finding's implications, their limitations, as well as suggest the outlines of

future investigations and end with a conclusion according to the results obtained.

Review Articles. Should be written, preferentially, by a specialist in the field object of the review and should contain the author's own contributions, either in the bibliography or with a discussion of the subject matter reviewed. No more than four authors are allowed. Reviews that consist only in a bibliographical description of the subject, without including an analysis, will not be accepted. The text body of the Reviews is free, although it is convenient to subdivide it in sections.

Systematic Reviews and Meta-Analyses, must follow the indications established internationally by PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) or any other similar method.

Clinical Case Reports. Should consist in the presentation of uncommon clinical cases in the daily medical practice. They must include a brief introduction about the pathology to be studied, a detailed description of the case, followed by a discussion and the corresponding bibliographical support. Limit the discussion to the most notable of the case.

Letters to the Editor, should be commentaries to recent publications in our Journal and if possible, should not exceed two pages in length, including references, if any.

Tables. The Tables will be presented on separate sheets. The numbering of the Tables will be in Arabic characters. They must have their titles centered and without acronyms or abbreviations. Lines should not separate columns. The clarification notes referring to the expressed in the body of the Table should be incorporated as footnotes, with the corresponding symbol, at the bottom. The journal does not accept the expression "Source of Information" in the Tables that refer to the results presented in the manuscript, but only in those that come from other material. Care should be taken to place commas be-

fore decimals if the article is written in Spanish or periods if it is in English.

Figures, should be submitted considering the following general points: each figure should be submitted as a separate file in the same software in which it was generated (GraphPad Prism® for example). Figures should be numbered consecutively, in Arabic numerals, according to the order of citation in the text. Make sure to use uniform font size and style in all figures. Figure legends must be sent separately and not appended to the figure, indicating their number, and with sufficient information to allow their interpretation, without having to recur to the text. Color Figures must be in TIFF or RGB (red,green,blue) and have at least 600 dpi. **Photographs**, may be in black and white or in color, they must have adequate contrast for their reproduction and be in JPG or TIF format, and comply with the following conditions: photographs in color or in shades of gray must have a minimum of 300 dpi. In the case of electronic microphotographs, extreme care must be taken with the sharpness of the reported findings and detailing them by means of symbols. The magnification used in the microphotographs should also be indicated. The legends must not be incorporated into the photograph and these must be presented on a separate page, in a sufficiently explanatory way, without having to turn to the text, and taking care of the description if the figure is in color or in shades of gray. Radiographic images should not contain legends that identify the patient. The Journal will not accept photographs or figures taken from other magazines without the respective authorization.

All **References** must be cited in the text as superscript Arabic numerals. They must be cited consecutively in the order of appearance in the text, written accurately, as they appear in the original work, and following the international norms described in “Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work

in Medical Journals”, updated in December 2021, [http:// www.icmje.org](http://www.icmje.org); i.e., first, last name (using capitals only at the beginning) and first name initials, without periods, for all authors. The names of all authors must be typed in bold face and each one separated by commas. The terms “y col.” or “et al.” are not acceptable. This must be followed by the full title of the article using capital letters only at the beginning and in proper names. Next, the abbreviated journal title, according to the indications of the Index Medicus (<http://nlm.nih.gov>), followed by the year of publishing; volume: and first and last page numbers separated by a hyphen. This must be followed by the digital object identifier of the work (DOI). Unpublished observations, personal communications or papers sent for publication will not be accepted as references; however, these may appear in the text, in parenthesis. If the author is an Organization, its name should be cited as a reference.

Examples:

– **References of periodic publications:** **Jaspe RC, Sulbaran Y, Hidalgo M, Loureiro CL, Moros ZC, Garzaro D, Rangel HR, Pujol FH.** A simple method for detection of mutations in amino acid 452 of the Spike protein of SARS-CoV-2 using restriction enzyme analysis. *Invest Clin* 2021; 62(4): 371-377. <https://doi.org/10.22209/IC.v62n4a07>.

– **Book References:** **Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM.** Principles of neural science. New York: McGraw Hill; 2001, p 1227-1246.

– **Articles in Books:** **Molina-Vilchez R, Diez-Ewald M, Fernández G.** Anemia y Embarazo. En: Zighelboim I, Guariglia D, Eds. Clínica Obstétrica. Caracas: Disinlimed; 2000. P 570-577.

– **Congress Abstracts:** **Metabolic benefits of lifestyle intervention in the clinical setting: a pilot study in Latinos with pre-diabetes from Venezuela, South América.**

Victoria Stepenka, Yoleida Rivas, Juan Casal, Roberto Gutiérrez, Elena Ryder, Hermes Florez. 70th. Scientific Sessions. American Diabetes Association. 25-29 junio, 2010, Orlando, USA.

– **Thesis: Leon-N I.** Caracterización de aislamientos del complejo *Sporothrix* spp. Provenientes de diferentes regiones de Venezuela [Tesis de Maestría] Caracas: IVIC; 2013.

– **Online Journals: Calvo B, Melo A, Perozo A, Hernández M, Francisco E, Hagen F, Meis J, Colombo J.** First report of *Can-*

didia auris in America: clinical and microbiological aspects of 18 episodes of candidaemia. J Infect 2016 [citado, 2017 febrero 10] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.inf.2016.07.008>.

Limit to a maximum of 50 references for original articles and 100 for Narrative and Systematic Reviews or Meta-analyses.

It is recommended to check the last number of our journal as a guide in the preparation of the manuscript consulting the web page: <http://sites.google.com/site/revistainvestigacionescnicas/home>.

Check List

- Cover letter signed by all authors accepting a significant participation in the work, that are in agreement with the content of the manuscript and that the content has not been published or submitted for publication elsewhere. Corresponding author must be identified.
- Pages sequentially numerated.
- Title in English.
- Title in Spanish.
- Short Title in the main language used in the manuscript.
- Full names of the authors without professional titles.
- Postal and e-mail addresses of the institution or institutions where the work was performed.
- Non structured abstracts in English and Spanish that state the purpose, basic procedures, main findings and principal conclusions of the study. No more than 250 words.
- Concise Introduction regarding to the study.
- Precise description of Material and Methods, or Patients and Methods, with references.
- Specification of statistical analysis (when required).
- Results described clearly and in logical order without extended discussion of their significance.
- Discussion based in findings of the study.
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text according to specifications of the journal.
- Unpublished results, personal communications or congress presentations without abstracts are not recommended in the reference list.
- Tables with footnotes below the table body.
- Illustrations and photographs according to journal specifications.
- Figures, illustrations and photographs with legends in separate pages.
- Conflict of competence.
- Source of founding.
- ORCID iD of the authors.
- Contribution of all authors to the paper.

Contents

EDITORIAL

Neglected tropical diseases in Venezuela in the era of COVID-19.

Chacín-Bonilla L (*E-mail: leonorbonilla42@yahoo.com*) 1
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a00>

ORIGINAL PAPERS

Correlation between bacterial type/bacterial quantity and bone loss detected by cone beam computed tomography (CBCT) in primary endodontic infections (English).

Oliva Rodríguez R, Rangel Galván GY, González Amaro AM, Gutiérrez Cantú FJ,
Muñoz Ruiz AI, García Cortés JO y Mariel Cárdenas J (*E-mail: richiendo@gmail.com*) 5
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a01>

Effect of the compound N-2,6-dichloro-aralkyl-2-aminoindane on the stereotyped behavior of rats. Selective action on the central dopaminergic system in the basal ganglia over limbic structures (Spanish).

Velásquez M del V, Albarracín AE, Boscán K, Angel LB, Izquierdo RE, Ramírez MM,
Migliore B del C, Charris JE, Garrido M del R, Israel A, López SE y Angel JE
(*E-mail: jangel63@yahoo.com*) 15
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a02>

Evaluation of cognitive performance in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus (Spanish).

El Kantar Y, Duran S, Lanes R y Paoli M (*E-mail: paolimariela@gmail.com*) 28
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a03>

Effects of somatostatin in combination with early hemoperfusion on inflammatory, hemorheological and oxidative parameters during the treatment of acute pancreatitis (English).

Zhai, Bin Yang H, Fu Y, Zhang D, Li Y and Huang J. (*E-mail: rxmwendfubck@163.com*). 41
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a04>

Health status of older adults attending the Geriatric Hospital of the Social Security, in Asunción, Paraguay. (Spanish).

Echagüe G (*E-mail: gamechague@yahoo.com*), Sosa L, Funes P, Díaz V, Ferrero M,
Cardozo O, Florentín M, Orué E y Franco R 53
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a05>

Web-tools for the genomic analysis of the 2022 Monkeypox virus global outbreak. (English).

Moros ZC, Loureiro CL, Jaspe RC, Sulbarán Y, Delgado M, Aristimuño OC, Franco C,
Garzaro DJ, Rodríguez M, Rangel HR, Liprandi F, Pujol FH y Zambrano JL
(*E-mail: jlzr.lab@gmail.com*) 68
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a06>

REVIEWS

Evidence of the effectiveness of the use of presurgical orthopedic appliances in patients with cleft lip and palate: a systematic review. (Spanish).

Artuza-Rosado G, Argüeta-Figueroa L, Bautista-Hernández MA, Torres-Rosas R
(*E-mail: rtorres,cac@uabjo.mx*) 81
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a07>

Neurological manifestations associated with SARS-CoV-2 infection: an updated review. (English).

Cevallos-Macías D, Vizcaíno Salazar G y Siteneski A (*E-mail: aline.siteneski@gmail.com*) 108
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a08>

SPECIAL PAPER

First decade of the journal Investigación Clínica on the “Web”. (Spanish).

Torres Guerra E (*E-mail: enrique.torres.guerra@gmail.com*) 123
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a9>

INSTRUCTIONS TO AUTHORS 128

Contenido**EDITORIAL**

- Las enfermedades tropicales desatendidas en Venezuela en la era de COVID-19.**
Chacín-Bonilla L (*Correo electrónico: leonorbonilla42@yahoo.com*) 1
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a00>

TRABAJOS ORIGINALES

- Correlación entre el tipo y cantidad de bacterias y la pérdida ósea detectada por Tomografía Computarizada de Haz Cónico (CBCT) en infecciones endodóncicas primarias. (Inglés).**
Oliva Rodríguez R, Rangel Galván GY, González Amaro AM, Gutiérrez Cantú FJ,
Muñoz Ruiz AI, García Cortés JO y Mariel Cárdenas J
(*Correo electrónico: richiendo@gmail.com*) 5
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a01>

- Efecto del compuesto N-2,6-dicloro-aralquil-2-Aminoindano en la conducta estereotipada de ratas. Acción dopaminérgica selectiva central sobre los ganglios basales más que en las estructuras límbicas. (Español).**
Velásquez M del V, Albarracín AE, Boscán K, Ángel LB, Izquierdo RE, Ramírez MM,
Migliore B del C, Charris JE, Garrido M del R, Israel A, López SE y Ángel JE
(*Correo electrónico: jangel63@yahoo.com*) 15
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a02>

- Evaluación del desempeño cognitivo en escolares y adolescentes con diabetes mellitus tipo 1. (Español).**
El Kantar Y, Duran S, Lanes R y Paoli M (*Correo electrónico: paolimariela@gmail.com*) 28
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a03>

- Efectos de la somatostatina en combinación con hemoperfusión precoz sobre parámetros inflamatorios, hemorreológicos y oxidativos durante el tratamiento de la pancreatitis aguda. (Inglés).**
Zhai, Bin Yang H, Fu Y, Zhang D, Li Y and Huang J.
(*Correo electrónico: rxmrvndfubck@163.com*) 41
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a04>

- Estado de salud y nutrición del adulto mayor que concurre al Hospital Geriátrico del Seguro Social en la Asunción. Paraguay. (Español).**
Echagüe G (*Correo electrónico: gamechague@yahoo.com*), Sosa L, Funes P, Díaz V,
Ferrero M, Cardozo O, Florentín M, Orué E y Franco R. 53
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a05>

- Herramientas web para el análisis genómico del virus de la viruela símica durante el brote mundial de 2022. (Inglés).**
Moros ZC, Loureiro CL, Jaspe RC, Sulbarán Y, Delgado M, Aristimuño OC, Franco C,
Garzaro DJ, Rodríguez M, Rangel HR, Liprandi F, Pujol FH y Zambrano JL
(*Correo electrónico: jlsr.lab@gmail.com*) 68
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a06>

REVISIONES

- Evidencia de la efectividad del uso de aparatología ortopédica prequirúrgica en pacientes con labio y paladar hendido: revisión sistemática. (Español).**
Artuza-Rosado G, Argueta-Figueroa L, Bautista-Hernández MA, Torres-Rosas R
(*Correo electrónico: rtorres,catt@uabjo.mx*) 81
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a07>

- Manifestaciones neurológicas asociadas con la infección por SARS-CoV-2: una revisión actualizada. (Inglés).**
Cevallos-Macías D, Vizcaíno Salazar G y Siteneski A
(*Correo electrónico: aline.siteneski@gmail.com*) 108
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a08>

TRABAJO ESPECIAL

- Primera década de la revista Investigación Clínica en la “Web” (Español).**
Torres Guerra E (*Correo electrónico: enrique.torres.guerra@gmail.com*) 123
<https://doi.org/10.54817/IC.v64n1a9>

- INSTRUCCIONES A LOS AUTORES 128**