REVISTA MEXICANA DE INDUSTRIA Y SALUD

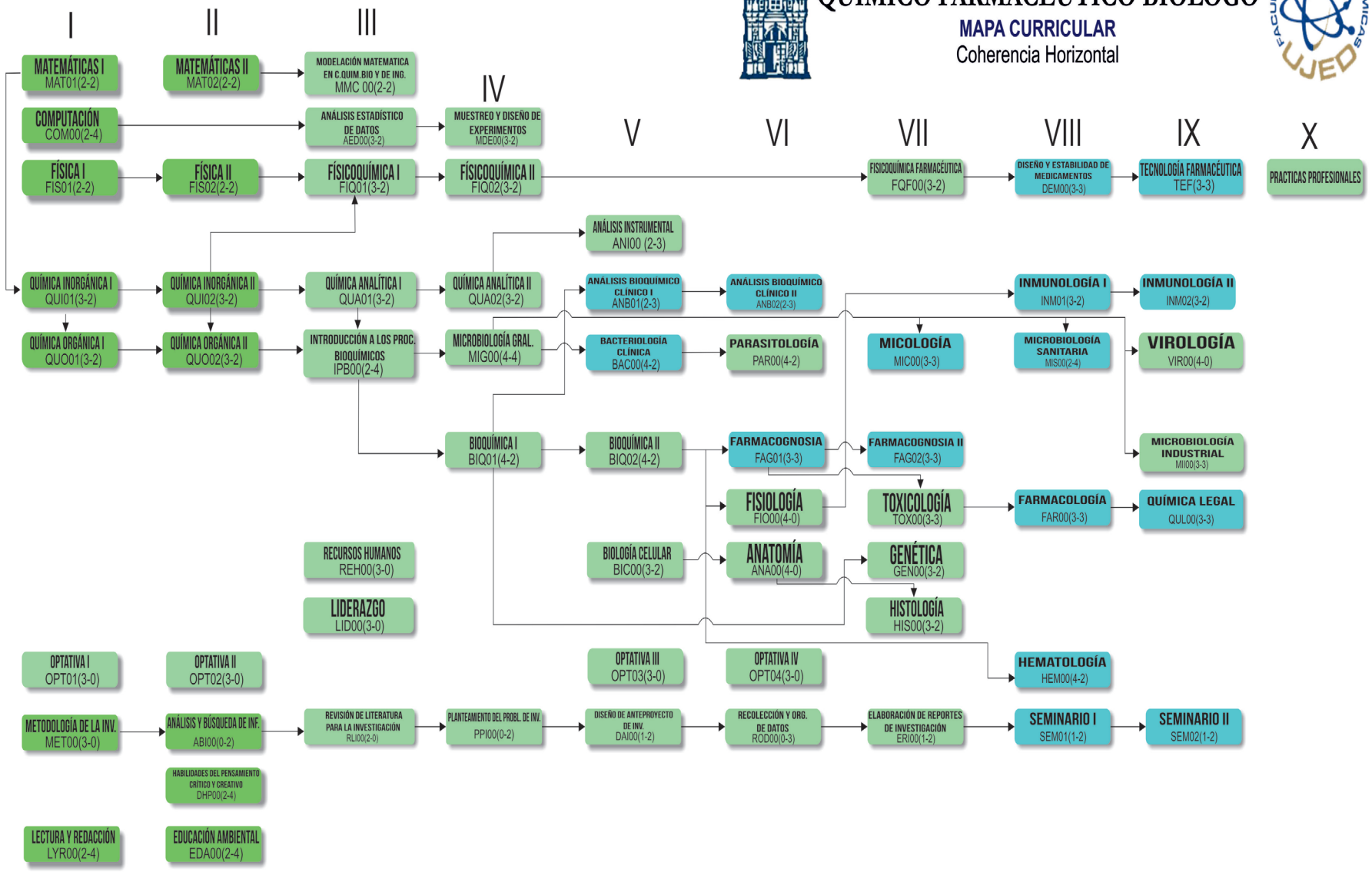
Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, UJED

Número 5
Volumen 1
Mayo 2017

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

MAPA CURRICULAR

Coherencia Horizontal



FORMACIÓN INTEGRAL

ARTE CULTURAL Y DEPORTE	FORMACIÓN INTELECTUAL	ACTIVIDADES DE VINCULACIÓN	8 CRÉDITOS	SERVICIO SOCIAL EXPERIENCIA RECEPCIONAL	10 CRÉDITOS 4 CRÉDITOS	PRACTICAS PROFESIONALES	12 CRÉDITOS

T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C
17	19	36	17	18	35	24	12	36	20	14	34	14	17	31	17	11	28	19	17	36	16	16	32	17	13	30	0	600	12

REVISTA MEXICANA DE INDUSTRIA Y SALUD

CINTILLO LEGAL

Revista Mexicana de Industria y Salud, año 3 No. 5 (Mayo-Octubre), es una publicación semestral editada por la Universidad Juárez del Estado de Durango a través de la Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio ubicada en Av. Artículo 123 S/N Colonia Filadelfia Gómez Palacio, Durango. C.P. 35010. Tel (871) 7158810 ext. 118, www.fcqgp.ujed.mx, editorremdis@gmail.com, www.simposiumfcqujed@gmail.com. Editor responsable: M. C. Mónica Andrea Valdez Solana.

Reserva de derechos al uso exclusivo (en trámite), ISSN (en trámite), ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número: Lic. Luis Antonio Montoya Jáquez, Departamento de Informática de la Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio ubicado en Av. Artículo 123 S/N Col. Filadelfia Gómez Palacio, Durango. C.P. 35010, fecha de última actualización 30 de mayo de 2017.

Consejo Editorial

Juan Pablo Pardo Vázquez
Bioquímica; Facultad de Medicina, UNAM

Oscar Flores Herrera
Bioquímica; Facultad de Medicina, UNAM

Blanca Miriam Torres Mendoza
Epidemiología; Centro Investigación Biomédica de Occidente, IMSS

Luis Eduardo Figuera Villanueva
Medicina Molecular; Centro Investigación Biomédica de Occidente, IMSS

Ethel Awilda García Latorre
Inmunología, ENCB, IPN

Jaime Héctor Gómez Zamudio
Farmacéutica; Centro Médico Nacional, Siglo XXI

Carlos Regalado González
Biotecnología de Alimentos; Universidad Autónoma de Querétaro

Francisco Ruiz Terán
Biotecnología de Alimentos; Facultad de Químicas, UNAM

Graciela Castro Escarpulli
Microbiología; Depto. Bacteriología médica, ENCB IPN

Jorge Alberto González Merchand
Microbiología; Dpto. Microbiología Molecular, ENCB IPN

Director editorial
Mónica Andrea Valdez Solana

Asistencia editorial
Francisco Carlos López Márquez
Juan José Martínez García
Erick Sierra Campos

Diseño
Luis Antonio Montoya Jáquez

DIRECTORIO INSTITUCIONAL

C.P.C y M.I. Oscar Erásmo Návar García
Rector

M.E.C. María de Lourdes Napoles Orrante
Secretario General

Dr. Víctor Manuel Rodríguez González
Director de la Facultad de Ciencias Químicas GP

Dr. Omar Alonso López
Secretario Administrativo

Ing. Alma Alejandra Peralta Caballero
Secretario Académico

M.C. Mónica Andrea Valdez Solana
Jefe de la División de Estudios de Posgrado e Investigación

Dra. Ruth Elizabeth Alanis Bañuelos
Coordinadora General de la Maestría en Ciencias Químicas

Dra. Concepción García Luján
Coordinadora de Investigación

Dr. Juan José Martínez García
Coordinador Académico

CONTENIDO

EDITORIAL vi
- Facultad de Ciencias Químicas

BIOQUÍMICA **1**
- Efecto eritroprotector del extracto de *Moringa oleifera* contra la hemólisis oxidativa de eritrocitos humanos.
Nancy Marissa Durán Arriaga, Mónica Andrea Valdez Solana, María Guadalupe Candelas Cadillo,
Jorge Armando Meza Velázquez, Patricia Ramírez Baca, Erick Sierra Campos

ALIMENTOS **12**
- Comparación de textura, nivel de agrado y humedad de un queso tipo panela con adición de semillas de chía (*Salvia hispánica* l.) entera
Gutiérrez-Hurtado, A. M., Romero-Rodríguez, S. K., Aguilera-Ortiz, M., Candelas-Cadillo, M. G., Martínez-García, J. J. y Ramírez-Baca, P.

CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y CLÍNICA **20**
-Fundamentos del desarrollo de los anticuerpos como medicamentos biotecnológicos
Segovia-Mendoza, M., Ambrosio, J.

MICROBIOLOGÍA **44**
- Productos de la colmena: el propóleo como antimicrobiano ante cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*
Astorga-Jimenez, R., Ruiz-González D.J., Téllez-López, M.A., Alanis-Bañuelos R.E., Castro-Barraza, F., García-Luján C

CRUCIGRAMA **52**
- Farmacología
Erick Sierra Campos y Mónica Andrea Valdez Solana

PROBLEMA BIOQUÍMICO **53**
- Estructura de proteínas
Erick Sierra Campos y Mónica Andrea Valdez Solana

EDITORIAL

LA CIENCIA EN LA JUVENTUD

La ciencia es una actividad humana que se aprende mejor haciendo las cosas que hacen los científicos: explorar, cuestionar, observar, discutir, investigar y descubrir. Por tanto, la juventud se debería centrar en investigar porque le gusta hacerse grandes preguntas y trabajar duro para encontrar las respuestas que puedan ayudar a resolver muchos de los problemas que tiene la sociedad.

Hoy día existe una gran diversidad de temas que son muy atractivos para los jóvenes, los cuales están influenciados por los avances tecnológicos de vanguardia y por problemas sociales muy importantes como la realidad virtual, drones, inteligencia artificial, la marihuana medicinal, nuevas drogas sintéticas, zika, células madre, la fotosíntesis artificial, contaminación atmosférica y fracking por mencionar algunos.

A pesar del avance de la ciencia y las tecnologías con lo que deberíamos tener oportunidad de crecer y desarrollarnos intelectualmente, el interés de la sociedad estudiantil por la ciencia no crece proporcionalmente y sí tienen gran aceptación las pseudociencias. Esto ha provocado que México no genere los conocimientos para competir con las grandes potencias de la ciencia debido a que la velocidad, volumen y complejidad con que se producen actualmente los conocimientos nos abruman y alertan.

Si aceptamos que el posgrado es el medio más propicio para la formación de profesores e investigadores, nos percatamos que en México enfrentamos limitaciones y retos importantes. Los estudios de posgrado no pueden asumirse solamente como una actividad para continuar con la profesionalización académica. Aun cuando la formación de posgrado supone la continuidad en la formación profesional, ésta tiene que reivindicar una orientación, finalidades y organización que sean congruentes con las necesidades de producción de conocimientos en el ámbito científico y tecnológico y, consecuentemente, en la formación de recursos humanos que sean capaces de enfrentar con éxito los diferentes desafíos del campo productivo, tecnológico, social, cultural y de medio ambiente que exige el desarrollo de cada región del país.

Las acciones actuales que se realicen con la juventud nos permitirán cambiar los posgrados de nuestras instituciones de educación superior y para que esto ocurra debemos permitir que los estudiantes exploren, cuestionen, discutan, investiguen y descubran como ser un científico.

Maestría en Ciencias Químicas

PERFIL DE INGRESO

Aquellos profesionistas egresados de las carreras de QFB, IQA, Medicina, Biología, Ingeniería Química, entre otras áreas afines que sean emprendedores, curiosos, creativos disciplinados y que quieran adquirir una visión holísitica.

Los aspirantes deberán tener conocimientos básicos en el área de química, biología y estadística, destreza en el manejo de instrumentos de laboratorio, habilidades de expresión oral y escrita, así como habilidades en el uso de herramientas informáticas con interés en investigación, además de tener conocimientos del idioma inglés.

PERFIL DE EGRESO

Los egresados del Programa de Maestría en Ciencias Químicas contarán con habilidades en el área de química clínica, farmacología, análisis moleculares para el diagnóstico que les permitirán abordar distintas problemáticas en el ámbito de la salud, ciencia y tecnología de los alimentos Abordando los problemas sociales desde una perspectiva amplia, multidisciplinaria y será capaz de transmitir los conocimientos y proponer soluciones desde un punto de vista crítico y ético.

Cuerpos académicos

UJED CA-103 Ciencia y Tecnología de alimentos
Cuerpo académico en consolidación

Línea de investigación:
Desarrollo e innovación de los alimentos

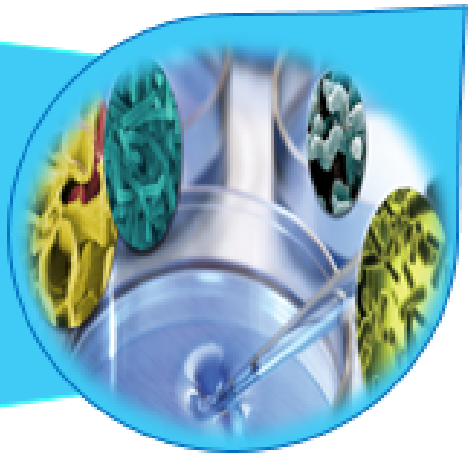
Integrantes:
Dr. Juan Ramón Esparza Rivera
Dr. Miguel Aguilera Ortiz
Dr. Jorge Armando Meza Velázquez
Dra. María Guadalupe Candelas Cadillo
Dra. Patricia Ramírez Baca
Dr. Erick Sierra Campos

UJED CA-108 Fisiopatología de la salud ambiental
Cuerpo académico en formación
Líneas de investigación:
Bases bioquímicas y moleculares de la salud

Integrantes:
Dr. Edgar Héctor Olivas Calderón
Dra. Rebeca Pérez Morales
Dra. Esperanza Yasmín Calleros Rincón

UJED-CA-125 Bacteriología médica diagnóstica y salud pública
Cuerpo académico en consolidación
Línea de investigación:
Factores de virulencia y drogosensibilidad de las enfermedades infecciosas y salud pública.

Integrantes:
Dra. Aurora Martínez Romero
Dra. Sandra Isabel Hernández González
Dr. José de Jesús Alba Romero



BIOQUÍMICA

(Bioenergética, proteínas, metabolismo, productos bioactivos)

"Para entender el corazón y la mente de una persona, no te fijes en lo que ha hecho, no te fijes en lo que ha logrado, sino en lo que aspira a hacer"
Khalil Gibran (1883-1931) ensayista, novelista y poeta libanés.

Efecto eritroprotector del extracto de *Moringa oleifera* contra la hemólisis oxidativa de eritrocitos humanos.

Nancy Marissa Durán Arriaga[1], Mónica Andrea Valdez Solana[1], María Guadalupe Candelas Cadillo[1], Jorge Armando Meza Velázquez[1], Patricia Ramírez Baca[1], Erick Sierra Campos[1*].

[1] Facultad de Ciencias Químicas Campus Gómez Palacio, Dgo. Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Artículo 123 S/N Fracc. Filadelfia, Gómez Palacio, Dgo. México.

[*]Autor de correspondencia: Erick Sierra Campos, email: ericksier@ujed.mx

RESUMEN

Los fitoquímicos presentes en la *Moringa oleifera* han ganado importancia debido a que contribuyen a la salud humana a través de múltiples efectos biológicos. En el presente estudio se evaluó el efecto del extracto hidroalcohólico de la *M. oleifera* sobre la hemólisis inducida tanto por el peróxido de hidrogeno y por el terbutil hidroperóxido. La incubación con el extracto resultó en una protección de los eritrocitos al estrés oxidativo inducido por H_2O_2 o terbutil-hidroperóxido. Los cambios morfológicos inducidos por el terbutil hidroperóxido son bloqueados por el extracto de Moringa. Los resultados sugieren que el estrés oxidativo inducido al eritrocito por los oxidantes es prevenido por el extracto de *M. oleifera* principalmente vía estabilización de la membrana. Nuestros resultados contribuyen con hallazgos importantes sobre el potencial que tiene la *M. oleífera* para prevenir la hemólisis inducida por oxidantes.

Palabras claves; eritrocitos, *M. oleifera*, hemólisis

1. INTRODUCCIÓN

La alta ingesta de vegetales ha sido asociada con baja incidencia de enfermedades degenerativas (de Kok, de Waard et al. 2010). Por tanto, el consumo de *Moringa oleifera* se ha incrementado considerablemente en los últimos años debido a su alto valor nutricional y medicinal.

Los beneficios que se obtienen de la *M. oleifera* se han atribuido a la presencia de diferentes sustancias bioactivas como vitaminas, carotenoides y compuestos fenólicos los cuales neutralizan las especies reactivas de oxigeno (Chisté, Freitas et al. 2012). Sin embargo, a pesar de que los extractos de la hoja de Moringa poseen alta capacidad antioxidante se desconocen sus efectos biológicos en células aisladas.

Los eritrocitos o células rojas de la sangre (RBC) están entre las células más abundantes en el organismo y su principal función es transportar oxigeno de los pulmones a todas las células del cuerpo humano utilizando la hemoglobina, la cual es una metaloproteína que contiene grupos hemo cuyos átomos de hierro temporalmente unen al oxígeno. Los RBC son ricos en ácidos grasos poli-insaturados en su bicapa de fosfolípidos y poseen altas concentraciones de oxígeno y el ion ferroso es un componente de la oxihemoglobina, sus actividades redox pueden conducir a la formación de niveles tóxicos de especies reactivas de oxigeno (ROS) tales como los radicales peroxilo ($ROO^{\cdot}$), quienes dañan los componentes de la membrana y promover la hemólisis que provoca la pérdida de hemoglobina. Además, la hemoglobina libre

expuesta al peróxido de hidrogeno causa la degradación del grupo hemo con la liberación de los iones de hierro, los cuales catalíticamente activan la lipoperoxidación (Puppo and Halliwell 1988). Por lo cual, los eritrocitos han sido utilizados como modelo para investigar el daño oxidativo, presentándose un especial interés en el daño a las membranas (Van der Zee, Dubbelman et al. 1985).

En este estudio se ha investigado la susceptibilidad de los eritrocitos humanos a sufrir un hemólisis oxidativo por el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) o por el terbutil hidroperóxido (TBHP) y valorar el efecto protector del extracto de *Moringa oleifera* al hemólisis oxidativa por radicales libres.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico de alta pureza y se compraron a la empresa Sigma Aldrich Chemical Co., México.

2.2 Preparación del extracto de hojas de *Moringa oleifera*

Las hojas de *Moringa oleifera* utilizadas en este estudio fueron obtenidas de la empresa akanandi de Gabriel Zamora, Michoacán, México.

2.3 Preparación de los eritrocitos

Se obtuvieron muestras de sangre de diferentes pacientes entre 20 y 22 años en ayunas de la Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Ciencias Químicas campus Gómez Palacio. A las muestras obtenidas se les realizaron de 4 a 5 lavados con solución salina al 0.9% obtenida de un stock de NaCl al 5%, para retirar el plasma, los glóbulos blancos y las plaquetas, dejando únicamente los eritrocitos.

2.4 Oxidación por tratamiento con terbutil hidroperóxido o peróxido de hidrogeno de los eritrocitos humanos

Primero se incubaron los eritrocitos con diferentes concentraciones de H_2O_2 (25, 50, 100 y 150 mM) y TBHP (5, 15, 25 y 50mM) para ver el daño que estos agentes oxidantes provocaban a la membrana de esas células. Después se centrifugaron y se obtuvo un sobrenadante que se leyó a longitudes de onda de 200 a 600 nm, para observar la liberación de la hemoglobina después de ese tratamiento, se procedió a lavar los eritrocitos para retirarles cualquier residuo de H_2O_2 y TBHP y finalmente se observaron en un microscopio óptico para observar la morfología del eritrocito. El porcentaje de hemólisis se determinó en el sobrenadante al medir la absorbancia a 540 nm para la hemoglobina total.

2.4 Hemólisis

La hemólisis se determinó al medir la liberación de la hemoglobina en el sobrenadante de las muestras tratadas a 540 nm y los datos se representaron sobre la base de la absorbancia máxima como el 100% en las alícuotas de eritrocitos completamente hemolizados en agua destilada (Şentürk, Gündüz et al. 2001).

2.5 Ensayo de inhibición *in vitro* de la hemólisis de eritrocitos humanos

Finalmente después de obtener los resultados del experimento anterior se procedió a repetir los mismos pasos, sin embargo los eritrocitos que se incubaron con diferentes concentraciones de H_2O_2 y TBHP, esta vez fueron previamente incubados con el extracto hidroalcohólico liofilizado de *Moringa oleifera*, para comprobar el

efecto de éste sobre las membranas.

2.6 Morfología de los eritrocitos

Se observaron en un microscopio óptico los eritrocitos incubados con extracto de *M. oleifera* en presencia o ausencia de H_2O_2 y TBHP. Utilizando una amplificación 100X.

2.7 Análisis estadístico

Los resultados son representados como los promedios ± la desviación estándar. La estadística fue aplicada con el programa Sigmaplot v12.3. Los valores entre tratamientos fueron analizados por un ensayo de t-student. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando el valor de $p<0.05$.

3. RESULTADOS y DISCUSIÓN

Un factor que contribuye decisivamente a la eficacia de ciertos compuestos fenólicos como antioxidantes es su grado de incorporación, uniformidad de distribución y orientación en la bicapa de lípidos de la membrana (Arora, Byrem et al. 2000); (Areias, Rego et al. 2001); (Saija, Scalese et al. 1995). Esta incorporación se afecta por varios factores como las interacciones electroestáticas, la formación de puentes de hidrogeno con grupos polares de fosfolípidos, interacciones hidrofóbicas con cadenas acil-grasos y por la geometría de los fosfolípidos (Rego and Oliveira 1995). Como los flavonoides son más hidrofilicos, su localización en la membrana cambia hacia el ambiente acuoso (Saija, Scalese et al. 1995); (Scheidt, Pampel et al. 2004). Su eficiencia antioxidante incrementa en un orden inverso a su capacidad para establecer puentes de hidrogeno y en forma directa a su flexibilidad a los cambios conformacionales (Areias, Rego et al. 2001), (Arora, Nair et al. 1998). Además, la localización de los antioxidantes con el centro de la membrana y sus resultantes restricciones sobre la fluidez de los componentes de la membrana pueden estéricamente ocultar la difusión de los radicales libres, por tanto, disminuye la cinética de las reacciones de los radicales (Arora, Byrem et al. 2000); (Barros, Pinto et al. 2001); (Kagan, Serbinova et al. 1990).

La fragilidad osmótica del eritrocito indica la sensibilidad de las células a los cambios en la presión osmótica que ocurren por alteraciones patológicas. La fragilidad se mide por el grado de hemólisis en una solución hipotónica de NaCl. El grado de hemólisis fue significativamente disminuida por el tratamiento de los RBC con el extracto de *M. oleifera* y confirman que este indicador puede ser utilizado para medir el daño por estrés oxidativo sobre este tipo celular.

En el grupo control, el nivel de fragilidad osmótica fue máximo a 0.35% de NaCl y el mínimo fue de 0.8% de NaCl, mientras que para las muestras de eritrocito tratados con el extracto alcanzan valores máximos de 0.25% y mínimos de 0.8% de NaCl, los cuales son independientes de la concentración del extracto. Por tanto, estos valores representan una disminución significativa de los límites de fragilidad máxima entre el tratamiento control y los tratados con el extracto ($p<0.05$).

La concentración de NaCl a la cual el 50% de los eritrocitos fueron lisados se considera la fragilidad osmótica media (MOF). Los resultados muestran que el valor de MOF fue significativamente menor en los grupos tratados con el extracto con respecto al control (0.35 ± 0.01% vs 0.52 ± 0.03%) (Figura 1). Estos resultados demuestran que el extracto de *M. oleifera* protege a los eritrocitos del daño oxidativo y concuerdan con los datos publicados que sugieren que los extractos del fruto de la

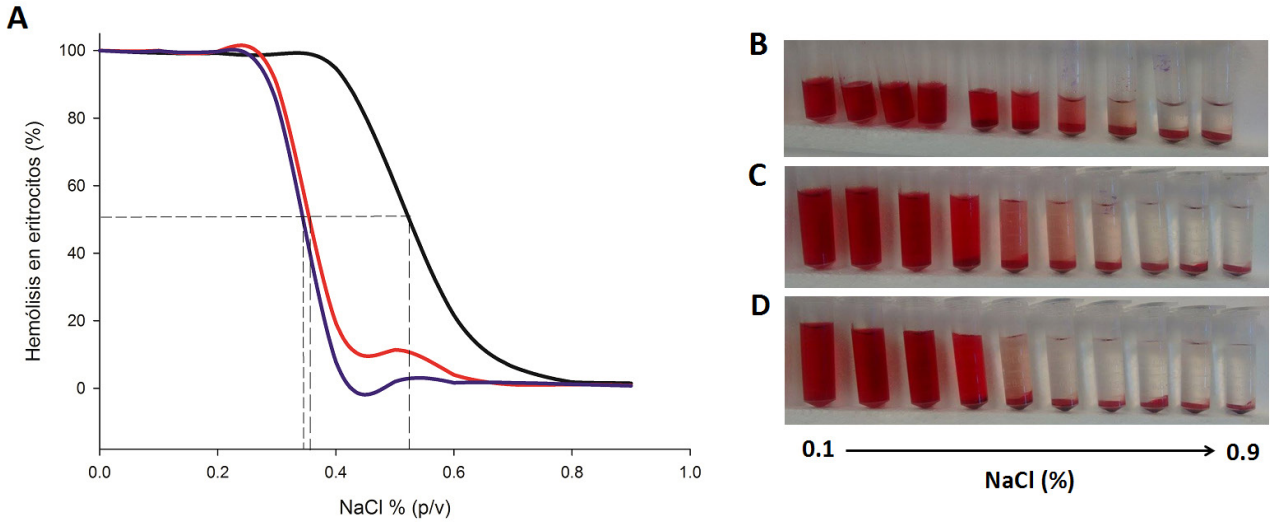


Figura 1. Gráfico e imagen de hemólisis de los RBC con diferentes tratamientos. A) El gráfico muestra el desplazamiento de los trazos hacia la izquierda de los RBC tratados con diferentes concentraciones de extracto con respecto a la muestra control indicando el efecto protector. B) Curva de hemólisis de los eritrocitos Control y su correspondencia con el trazo negro; C) Eritrocitos incubados por 30 minutos con 50 µg/mL de extracto de Moringa oleifera correspondiente al trazo rojo; D) Eritrocitos incubados por 30 minutos con 150 µg/mL de extracto de Moringa oleífera con su correspondiente trazo azul.

Cydonia oblonga Miller tienen una protección significativa de las membranas al hemólisis en una manera dependiente de la concentración y el tiempo (Magalhães, Silva et al. 2009). Al igual que (Tedesco, Russo et al. 2000) quienes reportaron que el vino rojo muestra propiedades protectivas contra la hemólisis de los eritrocitos que fue inducida por H_2O_2. Resultados similares fueron reportados para diferentes extractos de la cáscara de mango *Mangifera indica L.* (Ajila and Rao 2008).

En condiciones de estrés oxidativo, las membranas de los eritrocitos son propensas a efectos dañinos de los hydroperoxidos debido a su alta concentración de cadenas acil-grasos poli-insaturadas y grupos sulfidrilo presentes en sus proteínas. Es bien conocido que la hemoglobina desempeña una importante función en promover el estrés oxidativo (Tappel, Brown et al. 1961).

Algunos estudios indican que la incubación de los eritrocitos humanos con terbutil-hidroperóxido (TBHP) en la presencia de hemoglobina causan una modificación en la estructura e integridad de las membranas de estas células y por tanto un incremento en la oxidación de la hemoglobina puede causar una disminución en la lipoperoxidación inducida por TBHP (Rice-Evans, Baysal et al. 1985); (Trotta, Sullivan et al. 1981). En el panel A de la figura 2 se observa la pastilla uniforme de eritrocitos y una leve tonalidad rojiza en el sobrenadante debido a la baja liberación de hemoglobina que indica que el extracto no daña de manera significativa los eritrocitos. El tratamiento de los eritrocitos con H_2O_2 no causo un mayor grado de hemólisis ya que la liberación de hemoglobina que muy semejante al control (comparar Fig 2A vs 2B). Los resultados que se muestran en la Figura 3C sugieren que el cambio de coloración en la pastilla de los eritrocitos es debido a que el TBHP causo la oxidación de la hemoglobina, la cual quedo adherida a las membranas de los eritrocitos, por lo cual el sobrenadante fue incoloro.

La desnaturalización oxidativa de la hemoglobina

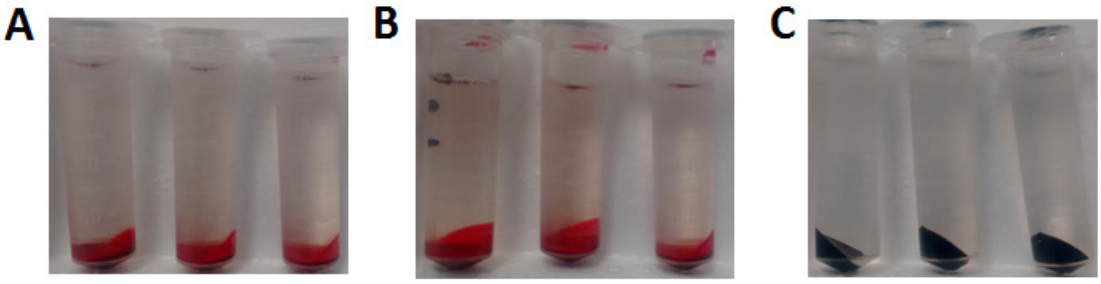


Figura 2. Efecto protector del extracto en las muestras de eritrocitos. A), eritrocitos incubados con 50 µg de Extracto de Moringa oleífera, B), eritrocitos incubados con 50 µg de Extracto de Moringa oleífera y H2O2 a 100mM, C), eritrocitos incubados con 50 µg de Extracto de Moringa oleífera y TBHP a 15mM.

es un proceso en el cual los cambios oxidativos en la molécula causan su ruptura. Este proceso ocurre cuando la concentración de oxidantes en los eritrocitos esta aumentada. Algunos químicos causan la oxidación de la hemoglobina, aunque sus mecanismos moleculares son desconocidos. La desnaturalización de la hemoglobina liberada de los eritrocitos dañados, pero no de la integridad de la membrana es la extensión de la oxidación y desnaturalización de la hemoglobina. La oxigenación parcial de la hemoglobina en la microcirculación resulta en cambios conformacionales que no son responsables por un aumento en la auto-oxidación (Balagopalakrishna, Manoharan et al. 1996) pero también incrementa la afinidad de la hemoglobina por la membrana plasmática (Cao, Bell et al. 2009). Por tanto, la hemoglobina parcialmente oxigenada, especialmente si esta es inestable, es responsable de la mayoría de las ROS generadas en la membrana de los eritrocitos (Mohanty, Nagababu et al. 2014). Sin embargo, los ROS localizados en la membrana plasmática no son accesibles al sistema antioxidantes del citosol (Mohanty, Nagababu et al. 2014) y pueden fácilmente oxidar los lípidos de membrana y las proteínas causando un daño oxidativo extensivo (Barodka, Nagababu et al. 2014). Esto puede ser fácilmente ensayado al medir el espectro de absorción. La metahemoglobina es una forma de hemoglobina en la cual el ión ferroso (Fe^{2+}) es oxidado a su estado férrico (Fe^{3+}) y es por tanto incapaz de unirse reversiblemente al oxígeno. La methemoglobina tiene un máximo de absorbancia a 630 nm.

Por tanto, se realizaron los barridos en un rango de longitudes de onda de 200 a 700 nm para cada uno de los tratamientos. El espectro de absorción de la hemoglobina se muestra en la Fig. 3. Los eritrocitos fueron incubados con diferentes concentraciones de TBHP (5-50 mM) o H_2O_2 (25-150 mM). En la Fig. 3A se observa que los eritrocitos control muestran tres picos característicos cuyas longitudes fueron (415, 540 y 576 nm), el cual es un espectro típico para la oxihemoglobina. Mientras que los sobrenadantes de los eritrocitos tratados con las diferentes concentraciones de TBHP muestran una desaparición de los picos a 540 y 576 nm con la aparición de un pico en la región de los 250 a 300 nm, lo cual confirma los datos anteriores. En el caso de los sobrenadantes obtenidos con los eritrocitos tratados con H_2O_2 se observó un aumento en la altura de los picos a las tres longitudes de onda de la oxihemoglobina, lo cual indica que este oxidante si causa una ligera hemólisis dependiente de la concentración (Figura 3B).

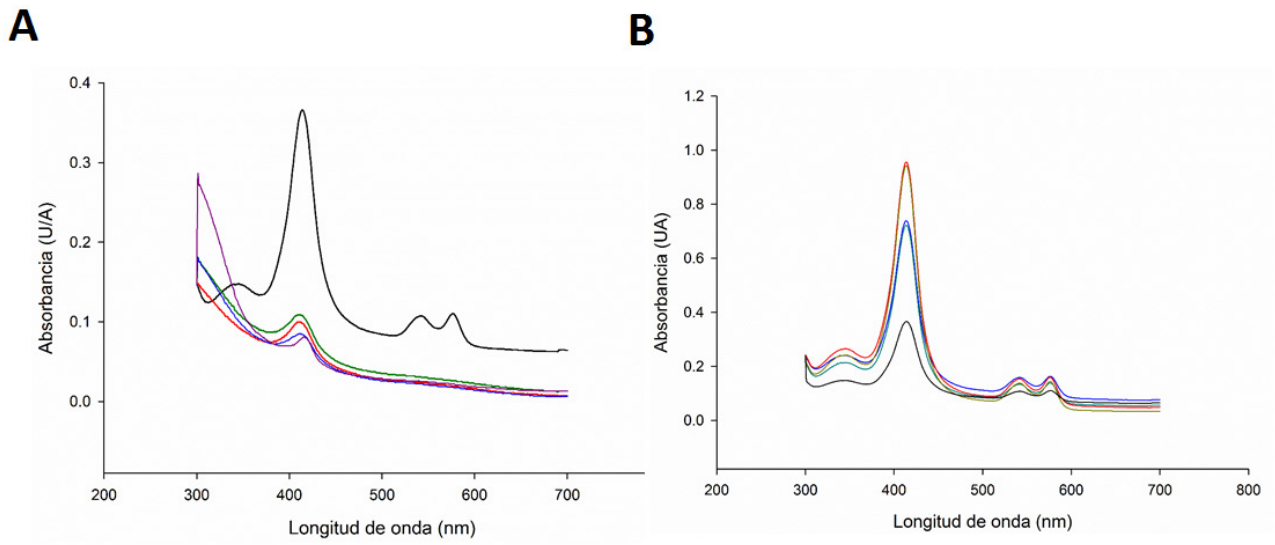


Figura 3. Espectro de absorción de la hemoglobina**.** A) hemoglobina liberada de eritrocitos tratados con TBHP; (---) Control, eritrocitos en solución salina al 0.9%, (---) Eritrocitos incubados con TBHP al 5 mM, (---) Eritrocitos incubados con TBHP al 15 mM, (---) Eritrocitos incubados con TBHP al 25 mM, (---) Eritrocitos incubados con TBHP al 50 mM. B) hemoglobina liberada de eritrocitos tratados con H_2O_2; (---) Control, eritrocitos en solución salina al 0.9%, (---) Eritrocitos incubados con H_2O_2 al 25 mM, (---) Eritrocitos incubados con H_2O_2 al 50 mM, (---) Eritrocitos incubados con H_2O_2 al 100 mM, (---) Eritrocitos incubados con H_2O_2 al 150 mM.

Los eritrocitos tienen un sistema antioxidante extenso que incluye la catalasa, glutatión peroxidasa (Nagababu, Chrest et al. 2003) y peroxirredoxina (Lee, Kim et al. 2003) que neutralizan el H_2O_2 generado. Diversos estudios han mostrado que el 1% de la catalasa total en RBC que neutraliza una cantidad significativa de H_2O_2 (Mueller, Riedel et al. 1997). La eficiencia del sistema de la catalasa fue confirmada por las observaciones que la adición del H_2O_2 a los eritrocitos no producen alguna degradación del hemo al menos que la catalasa sea completamente inhibida por la azida (Nagababu and Rifkind 2000). Estos antecedentes pueden explicar porque el H_2O_2 no causo la oxidación y desnaturalización de la hemoglobina en nuestro estudio (Figura 3).

Los eritrocitos son las células sanguíneas más comunes en los vertebrados. Algunas moléculas oxidantes directamente afectan su estructura y función. Empleando microscopia visible se valoró el efecto del H_2O_2 y TBHP sobre la morfología de los eritrocitos. La Figura 4 muestra las observaciones microscópicas con magnificación 100x de los eritrocitos control y tratados con los oxidantes en presencia o ausencia del extracto. En la Fig. 4B se observa que los eritrocitos no cambian su morfología por la presencia del extracto. Resultados similares se obtuvieron con el tratamiento con H_2O_2 (Figs. 4C y D). Mientras que cambios morfológicos significativos se obtuvieron entre el grupo tratado el TBHP y el tratamiento control (Fig. 4E), los cuales son bloqueados por el tratamiento previo con el extracto de *M. oleifera* (Fig. 4F). Estos datos confirman que el TBHP causa la oxidación de la hemoglobina la cual se une a la membrana y altera la morfología de los eritrocitos. Sin embargo, se requieren más estudios para demostrar que la metahemoglobina formada por THBP es inhibida por concentraciones más altas de extracto de *M. oleifera.*

La membrana del eritrocitos es la responsable de la mayoría de las funciones fisiológicas y está

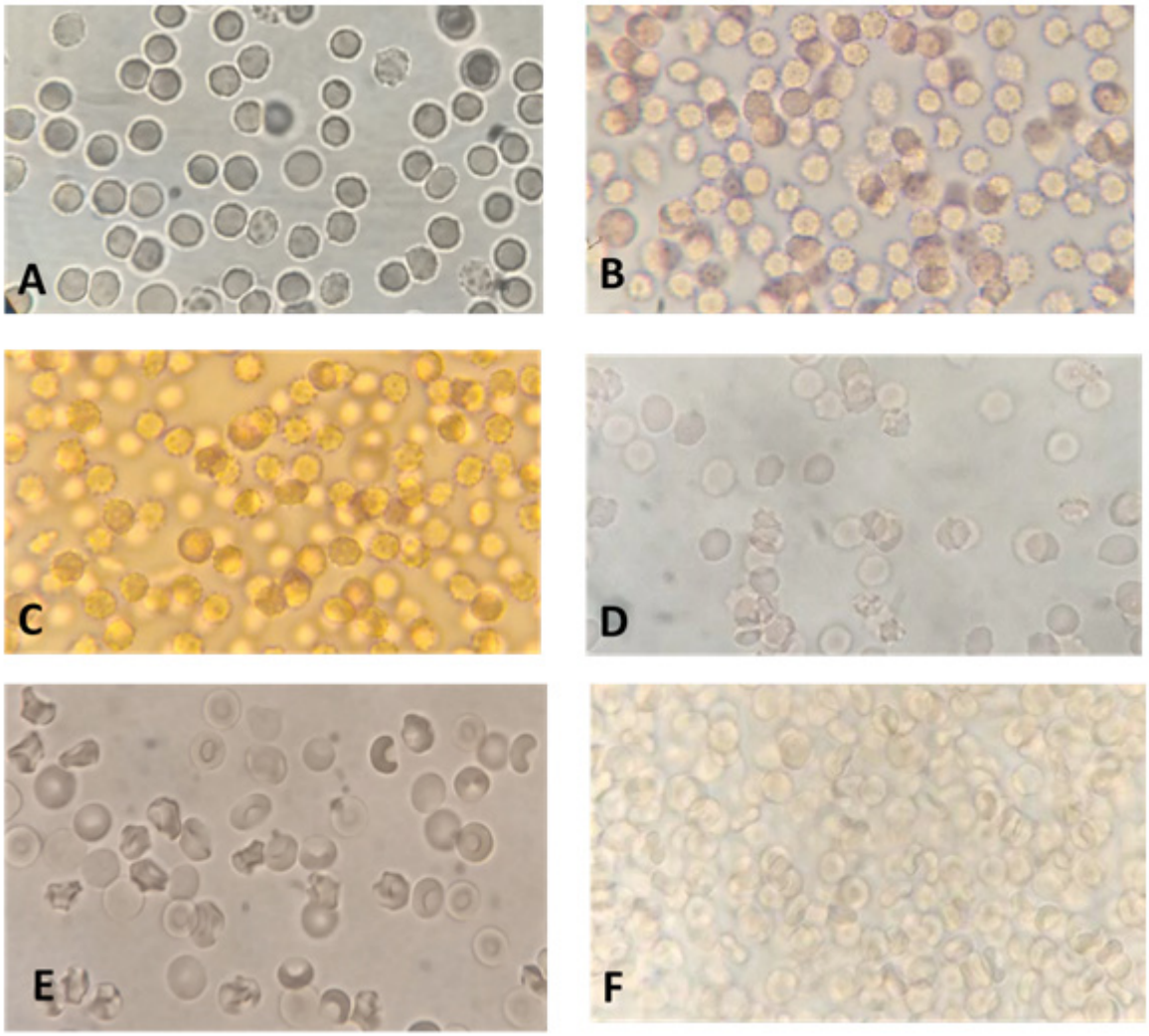


Figura 4. Efecto protector del extracto en la morfología eritrocitaria A), eritrocitos control, B), eritrocitos incubados con 50 µg de Extracto de M. oleifera, C), eritrocitos incubados con H2O2 a 100 mM, D), eritrocitos incubados con 50 µg de Extracto de M. oleifera y H2O2 a 100 mM, E), eritrocitos incubados con TBHP a 15 mM, F), eritrocitos incubados con 50 µg de extracto de M. oleifera y TBHP a 15 mM.

formada por una bicapa lipídica plana, constituida en un 80% por fosfolípidos, colesterol y en menor medida por glicolípidos y aminofosfolípidos, que se encuentran distribuidos asimétricamente (Kay, Marchalonis et al. 1991). Debido a que la susceptibilidad de las células al daño oxidativo depende de la integridad de la membrana, al ser tratados los eritrocitos previamente con extracto hidroalcohólico liofilizado de *M. oleifera*, se provoca un cambio en la forma del eritrocito y a su vez le disminuye también la susceptibilidad al estrés oxidativo (Lien, Ren et al. 1999), (Arora, Byrem et al. 2000), (Areias, Rego et al. 2001).

4. CONCLUSIÓN

El TBHP afecta los niveles de Hb, lo cual puede causar la oxidación de la hemoglobina. Mientras que el H_2O_2 no induce algún cambio aparente en la oxidación de la hemoglobina. El grado de hemólisis fue significativamente disminuida por el tratamiento de los RBC con el extracto de M. oleífera y confirman que este indicador puede ser utilizado para medir el daño por estrés oxidativo sobre este tipo celular.

5. REFERENCIAS

Ajila, C. and U. P. Rao (2008). "Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat erythrocytes by Mangifera indica L. peel extract." Food and Chemical Toxicology **46**(1): 303-309.

Areias, F. M., et al. (2001). "Antioxidant effect of flavonoids after ascorbate/Fe 2+-induced oxidative stress in cultured retinal cells." Biochemical Pharmacology **62**(1): 111-118.

Arora, A., et al. (2000). "Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids." Archives of Biochemistry and Biophysics **373**(1): 102-109.

Arora, A., et al. (1998). "Structure–activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system." Free Radical Biology and Medicine **24**(9): 1355-1363.

Balagopalakrishna, C., et al. (1996). "Production of superoxide from hemoglobin-bound oxygen under hypoxic conditions." Biochemistry **35**(20): 6393-6398.

Barodka, V. M., et al. (2014). "New insights provided by a comparison of impaired deformability with erythrocyte oxidative stress for sickle cell disease." Blood Cells, Molecules, and Diseases **52**(4): 230-235.

Barros, M. P., et al. (2001). "Astaxanthin and peridinin inhibit oxidative damage in Fe2+-loaded liposomes: scavenging oxyradicals or changing membrane permeability?" Biochemical and biophysical research communications **288**(1): 225-232.

Cao, Z., et al. (2009). "Nitrite enhances RBC hypoxic ATP synthesis and the release of ATP into the vasculature: a new mechanism for nitrite-induced vasodilation." American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology **297**(4): H1494-H1503.

Chisté, R. C., et al. (2012). "The potential of extracts of Caryocar villosum pulp to scavenge reactive oxygen and nitrogen species." Food chemistry **135**(3): 1740-1749.

de Kok, T. M., et al. (2010). "Antioxidative and antigenotoxic properties of vegetables and dietary phytochemicals: the value of genomics biomarkers in molecular epidemiology." Molecular nutrition & food research **54**(2): 208-217.

Kagan, V. E., et al. (1990). "Generation and recycling of radicals from phenolic antioxidants." Archives of Biochemistry and Biophysics **280**(1): 33-39.

Kay, M. M., et al. (1991). "Human erythrocyte aging: cellular and molecular biology." Transfusion medicine reviews **5**(3): 173-195.

Lee, T.-H., et al. (2003). "Peroxiredoxin II is essential for sustaining life span of erythrocytes in mice." Blood **101**(12): 5033-5038.

Lien, E. J., et al. (1999). "Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants." Free Radical Biology and Medicine **26**(3): 285-294.

Magalhães, A. S., et al. (2009). "Protective effect of quince (Cydonia oblonga Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes." Food and Chemical Toxicology **47**(6): 1372-1377.

Mohanty, J., et al. (2014). "Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging." Frontiers in physiology **5**: 84.

Mueller, S., et al. (1997). "Direct evidence for catalase as the predominant H2O2-removing enzyme in human erythrocytes." Blood **90**(12): 4973-4978.

Nagababu, E., et al. (2003). "Hydrogen-peroxide-induced heme degradation in red blood cells: the protective roles of catalase and glutathione peroxidase." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects **1620**(1): 211-217.

Nagababu, E. and J. M. Rifkind (2000). "Heme degradation during autoxidation of oxyhemoglobin." Biochemical and biophysical research communications **273**(3): 839-845.

Puppo, A. and B. Halliwell (1988). "Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Is haemoglobin a biological Fenton reagent?" Biochemical Journal **249**(1): 185-190.

Rego, A. C. and C. R. Oliveira (1995). "Dual effect of lipid peroxidation on the membrane order of retinal cells in culture." Archives of Biochemistry and Biophysics **321**(1): 127-136.

Rice-Evans, C., et al. (1985). "t-Butyl hydroperoxide-induced perturbations of human erythrocytes as a model for oxidant stress." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes **815**(3): 426-432.

Saija, A., et al. (1995). "Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes." Free Radical Biology and Medicine **19**(4): 481-486.

Scheidt, H. A., et al. (2004). "Investigation of the membrane localization and distribution of flavonoids by high-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes **1663**(1): 97-107.

Şentürk, Ü. K., et al. (2001). "Exercise-induced oxidative stress affects erythrocytes in sedentary rats but not exercise-trained rats." Journal of Applied Physiology **91**(5): 1999-2004.

Tappel, A., et al. (1961). "Unsaturated lipid peroxidation catalyzed by hematin compounds and its inhibition by vitamin E1." Journal of the American Oil Chemists Society **38**(1): 5-9.

Tedesco, I., et al. (2000). "Antioxidant effect of red wine polyphenols on red blood cells." The Journal of nutritional biochemistry **11**(2): 114-119.

Trotta, R. J., et al. (1981). "Lipid peroxidation and hemoglobin degradation in red blood cells exposed to t-butyl hydroperoxide: Dependence on glucose metabolism and hemoglobin status." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects **678**(2): 230-237.

Van der Zee, J., et al. (1985). "Peroxide-induced membrane damage in human erythrocytes." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes **818**(1): 38-44.

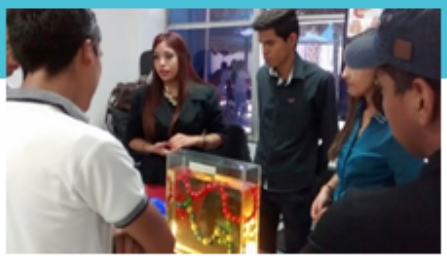
Químico farmacéutico Biólogo

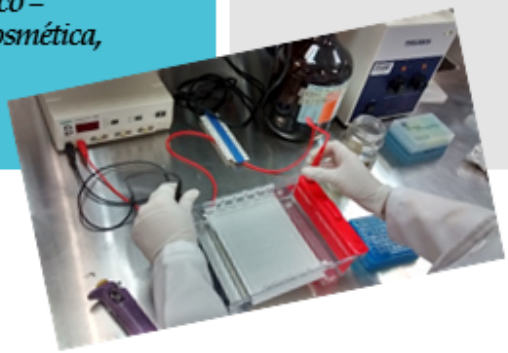
PERFIL INGRESO

El aspirante a ingresar a esta Facultad con el deseo de cursar la Carrera de Químico Farmacéutico Biólogo, debe reunir las siguientes características: 1. Conocimientos generales de las ciencias básicas como son: Química, Física, Matemáticas y Biología. 2. Habilidades para: Aprender por si mismos, resolver problemas y para el razonamiento numérico y verbal. 3. Actitud pro - activa, y emprendedora. 4. Capacidad de trabajar en equipo. 5. Espíritu emprendedor. 6. Capacidad de análisis y síntesis, de observación analítica, de deducción y de memoria. 7. Gusto por la ciencia y la investigación. 8. Habilidad manual. 9. Espíritu científico y creativo. 10. Aptitud para aplicar en la práctica conocimientos teóricos.

PERFIL EGRESO

El Químico Farmacéutico Biólogo es un profesionista que: basando sus estudios en la naturaleza y procesos químicos de los seres vivos y con una sólida formación en química y biología deberá aplicar sus conocimientos a la preparación y control de sustancias o sistemas que regulen o modifiquen los procesos bioquímicos, tales como medicamentos, cosméticos, alimentos y agentes de diagnóstico. - Aplicará sus conocimientos para resolver problemas en áreas de biotecnología, ciencias de los alimentos, microbiología, diagnóstico clínico, ambiental y análisis farmacéutico. - Se dedicará a la producción de bienes y servicios en áreas relacionadas con la salud, química farmacéutica, química legal y patología forense, laboratorios de diagnóstico clínico veterinario, laboratorios de análisis bromatológicos, bancos de sangre, biología, etc. - Tomando en cuenta el marco legal vigente en cada una de las áreas de desarrollo, colaborará con equipos de salud en el uso racional de medicamentos a través de programas de vigilancia farmacológica, desarrollo profesional de medicamentos, atención farmacéutica, distribución autorizada, etc. - Tendrá la capacidad de desarrollar con ética y responsabilidad la innovación de productos farmacéuticos con el propósito de mejorar la calidad de vida del paciente. - Con amplias bases en el ámbito industrial: Alimentos y bebidas, fermentación, químico – farmacéutica, agroquímica, química en general, biotecnología y cosmética, elaboración de productos para uso veterinario





ALIMENTOS

(Alimentos funcionales, biotecnología e innovación de los alimentos)

"Lo último que uno sabe es por dónde empezar"
Blaise Pascal (1623-1662) científico, filósofo y escritor francés.

Comparación de textura, nivel de agrado y humedad de un queso tipo panela con adición de semillas de chía (*Salvia hispánica* l.) entera

Gutiérrez-Hurtado, A. M., Romero-Rodríguez, S. K., Aguilera-Ortiz, M., Candelas-Cadillo, M. G., Martínez-García, J. J. y Ramírez-Baca, P. Facultad de Ciencias Químicas-GP, Universidad Juárez del Estado de Durango ramirezbp2000@yahoo.com.mx

Facultad de Ciencias Químicas Unidad Gómez Palacio, Universidad Juárez Del Estado De Durango

Resumen

El queso panela es un producto ampliamente consumido en México, por ser uno de los más utilizados para una dieta equilibrada porque por su bajo contenido en grasas. Si se le adicionaran ingredientes funcionales, tales como las semillas de chía se mejorarían tanto sus propiedades funcionales como nutricionales al incrementar ácidos grasos esenciales como el omega 3 y 6, y otros nutrientes con actividad antioxidante y fibra. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la semilla de chía adicionada en un queso tipo panela y comparar su textura, nivel de agrado y humedad de un queso sin semilla y uno comercial. Se utilizó leche de vaca, estabilizantes, cloruro de calcio, saborizantes y cuajo. La chía se obtuvo de centros comerciales de la ciudad de Gómez Palacio. Una vez elaborado el queso panela con la adición de las semillas de chía entera, se le realizaron las pruebas analíticas de nivel de agrado con una escala hedónica de 5 puntos (valores extremos 1 = me disgusta mucho y 5 = me gusta mucho), con una participación de 60 panelistas (Anzaldúa, 1994), textura (Instrumental, Texturómetro TAX-2PLUS) y humedad (AOAC, 2000). El diseño experimental fue unifactorial, con 3 repeticiones y completamente al azar y el análisis de datos se llevó a cabpará por un ANOVA con un nivel de significancia de 0.5%. Los resultados indican que no hay diferencia significativa entre un queso comercial, un queso elaborado sin semilla de chia, ni los quesos en los cuales se adicionó el 1 y 1.5% de chia.

Palabras clave: Queso panela, chía, análisis sensorial.

Abstract

Panela cheese is a product widely consumed in México, since it is one of the most used for a balanced diet because of a low percentage of fat compared to other types of cheese. The addition of chia seeds will help to improve the health to consumers, because these seeds contain essential fatty acids like omega 3 and 6, antioxidants, polyphenols, minerals and vitamins. The objective of this study was to evaluate the effect of the addition of chia seed to a panela cheese, and compare the texture, level of acceptation and moisture content with different concentrations of chia seed (0, 1.0 and 1.5 and a commercial cheese). It was used cow's milk, stabilizers, calcium chloride, flavors and rennet. Chia was obtained from Commercial Centers in Gómez Palacio. Once the panela cheese was made, it was analyzed for level of acceptation (Anzaldúa,

1994) with 60 consumer judges, Instrumental texture (Texturemeter TAX-2PLUS) and moisture content (AOAC, 2000). The experimental design was a one-way factorial and the data was analyzed with an ANOVA with a significance level of 0.5%. Results show no difference between any of the treatments.

Key words: Panela cheese, Chia seeds, sensorial analysis.

Introducción

El queso es un alimento de amplio consumo a nivel mundial cuyas características nutritivas, funcionales, texturales y sensoriales difieren entre cada tipo. Se estiman más de 2000 variedades de queso, entre madurados, semi-madurados y frescos, no obstante en México predomina el consumo de quesos frescos, mismos que forman parte de una enorme variedad de platillos (Ramírez y Vélez, 2012). La Norma Oficial Mexicana (NOM –121–SSA1–1994) especifica que queso fresco se caracteriza por un contenido de humead elevado, un sabor suave y un periodo de vida de anaquel corto, por lo que debe ser refrigerado.

Tradicionalmente la dieta del Mexicano es pobre en proteínas de origen animal, lo cual podría cambiar con la adición del queso como alimento de consumo frecuente (Morales y col., 2003), cabe recordar que este derivado lácteo es un ingrediente indispensable en múltiples platillos de la comida típica mexicana. Además, en México también existe una gran variedad de quesos, los cuales se clasifican de acuerdo a: Región de origen, método de elaboración, apariencia general (sabor, tamaño y color), vida de anaquel, propiedades físicas, análisis químico y propiedades microbiológicas (Urdaneta, 2004).

Algunas veces los quesos frescos son adicionados de saborizantes tales como el tomillo, orégano, chile pimiento, chile jalapeño, ajo, cebollín, etc., las cuales tienen aceptación en el mercado. Sin embargo, actualmente el público consumidor presenta especial interés por alimentos que le aporten algún beneficio a su cuerpo y son conocidos como alimentos funcionales, que se caracterizan por presentar propiedades antioxidantes

Estos compuestos están presentes en algunas semillas como la chía a la cual se le atribuyen importantes propiedades. A estas semillas se les puede considerar como una fuente importante de proteínas de buena calidad, ácidos grasos poliinsaturados (ω-9, ω-6 y ω-3), fibra, antioxidantes, minerales y vitaminas (Fernández y col., 2006; Silveira y Salas, 2014). Bodiora y col., (2017), encontraron un mayor efecto protector de la combinación de antioxidantes naturales PA y TOC (50:50) que el que se logra con el TBHQ. El aceite de chía contiene la proporción más alta de ácido linoleico que cualquier otra fuente vegetal (Ayerza y Coates, 2004). La incorporación de semillas de chía a un queso fresco durante el proceso permitirá ofrecer al público consumidor una alternativa de un queso con propiedades funcionales adicionales.

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la adición de diferentes concentraciones de semillas de chía *(Salvia hispánica)* sobre la textura, nivel de agrado y humedad de un queso tipo panela

Materiales y Métodos

La presente investigación es de tipo experimental, evaluando diferentes concentraciones de chía adicionadas a un queso tipo panela (control, 0%, 1% y 1.5%), considerando el control como un

queso panela comercial. Se llevó a cabo en los Laboratorios Multidisciplinarios de la Facultad de Ciencias Químicas Campus Gómez Palacio de la Universidad Juárez del Estado de Durango durante el periodo comprendido de Febrero 2015 a Diciembre 2016.

La leche entera de vaca para la elaboración del queso proporcionada por el establo de la Facultad de Agronomía y Zootecnia de la UJED ubicado en el ejido de Venecia Durango y su composición química fue: 3.4% grasa, 13% sólidos totales y una acidez 12°D. El estabilizante, saborizante y cloruro de Calcio ($CaCl_2$) se obtuvieron en "Cuajo El Danes®, y la chía en un Centro comercial de la ciudad de Gómez Palacio. El total de la leche utilizada fue 30 L, distribuido en 3 tratamientos de 3.5 L.

La textura se determinó como la resistencia que presenta un queso panela a la compresión con un punzón de cabeza redonda expresada en Newton y medida en un texturómetro TA.XTplus (*Texture Analyser* de Stable Micro Systems). El nivel de agrado se obtuvo como la preferencia del consumidor sobre el queso con diferentes porcentajes de semillas de chía, expresada de acuerdo a una escala hedónica de 5 puntos con 60 jueces consumidores (Anzaldúa, 1994). La humedad se calculó como el porcentaje de agua por cada 100 gramos de queso de acuerdo al método del AOAC (2000).

Para la elaboración de 1 kilo de queso tipo panela se vaciaron 10 litros de leche entera en un recipiente y se pasteurizó la leche a 63 °C durante 30 minutos, posteriormente se procedió a enfriarla hasta 40°C y, se le adicionó el $CaCl_2$ con agitación y se le agrego el cuajo (1:10,000 por cada 100 litros de leche), posteriormente se le agitó brevemente y se dejó reposar entre 15 o 35 minutos. Transcurrido el tiempo se cortó la cuajada y nuevamente dejo reposar 10 minutos. Como siguiente paso se desueró la mezcla y se pasó la cuajada a un proceso de salado con un 1% de sal, adicionándose en esta etapa del proceso las semillas de chía entera para proceder posteriormente al moldeado, y prensado, para después de 2 horas ser desmoldado y a refrigerar a 4°C.

En el diseño experimental fue un factorial con 4 niveles (control, 0%, 1%, y 1.5% de semillas de chía), y se realizaron 3 repeticiones por cada tratamiento completamente al azar. Los resultados de humedad y textura fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de $p \leq 0.5$ (Hernández-Sampieri y col., 2007). Para el nivel de agrado mediante el método no paramétrico de Friedman y la comparación de medias por el método de Nemenyi. Las pruebas estadísticas se llevaron a cabo con el programa Statistic (Stat-Soft, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características de textura son criterios de gran importancia para analizar la evolución de la calidad de los quesos (Lebecque y col., 2001) resultando afectadas por los parámetros que modifican las características de la leche y los quesos (Lawlor y col., 2001).

Los resultados de textura del queso tipo panela adicionado con semillas de Chía entera no muestran diferencia significativa, aunque se observa una tendencia a disminuir la textura al adicionarse la chía, lo cual está relacionado con la retención de humedad, ya que en el queso con chía se logra apreciar una ligera retención de humedad. Los valores de textura fluctuaron desde 0.995 N en el queso comercial a un 0.62 N

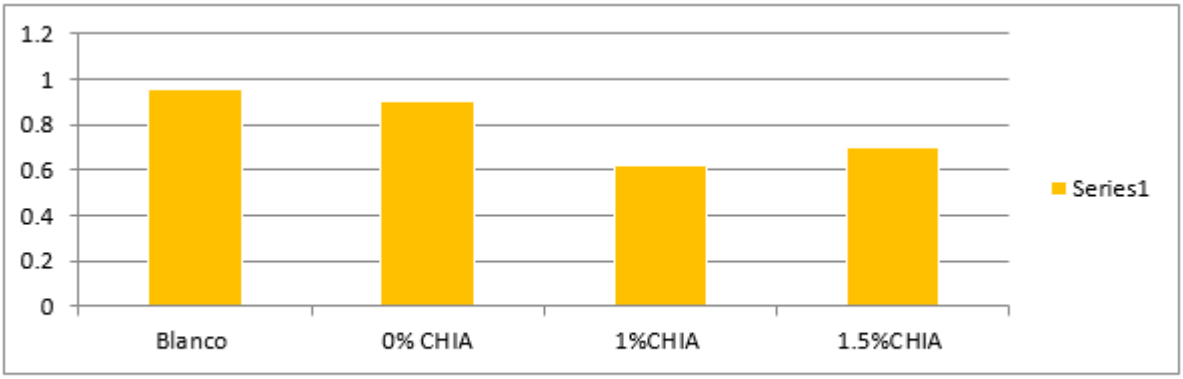


Figura 1. Promedio de los resultados de textura expresados en newtons (N) en quesos con y sin adición de chía.

en el que contiene 1.0% de chía (Figura 1). Según Álvarez y col. (2007), en el análisis de perfil de textura la dureza de los quesos frescos depende de su constitución (tamaño de las micelas de caseína y la αS1 caseína) y composición (contenido de humedad y grasa). Esto sugiere que la tendencia de disminuir la textura en quesos adicionados de chía pudiese corresponder al cambio en el porcentaje de humedad.

Nivel de agrado

Ahmed y col., (2012) revelaron que el uso de especies tales como el clavo, comino negro y pimiento negra dieron valores aceptables en el nivel de agrado en quesos Mudaffa además de que le proporcionaban una importante actividad antioxidante. En este proyecto, el nivel de agrado en quesos tipo panela con y sin adición de chía, no se observa diferencia significativa ($p \geq 0.5$), mostrando una mediana de 4.0 para todos los tratamientos. Sin embargo, en la figura 2 se logra apreciar una mejor distribución de los datos favorables de nivel de agrado del control y aún mejores en el tratamiento con 1.5% de semillas de chía (Figura 2).

Estos resultados sugieren que el uso de semillas de chía en el queso fresco tipo panela, es aceptable con el consumidor y que pudieran mejorar las propiedades funcionales del mismo, especialmente en lo referente a la capacidad antioxidante, además de mejorar el nivel nutricional con un aporte importante de ácidos omega.

Humedad

La pérdida de agua en los diferentes quesos elaborados con y chía varía desde 55.93% en el

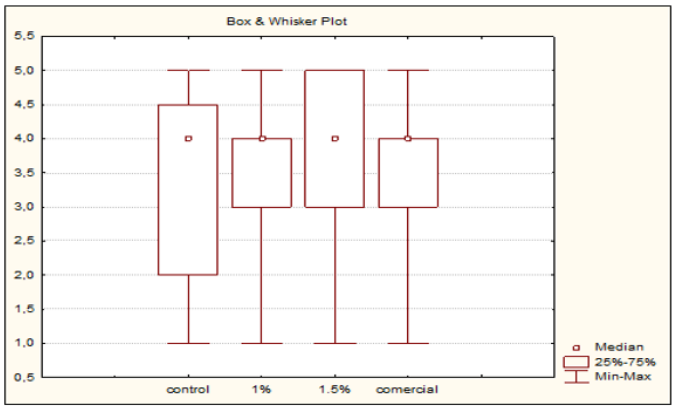
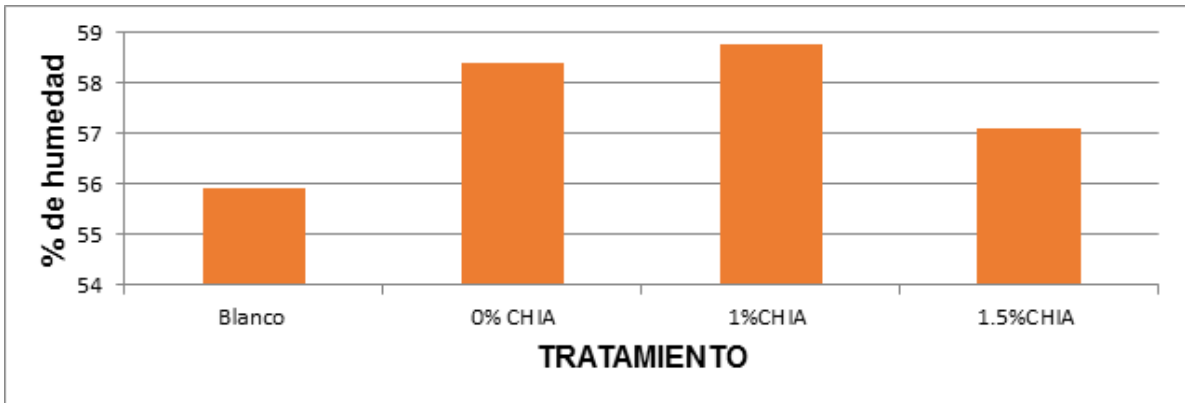


Figura 2. Gráfica con los resultados estadísticos del nivel de agrado de queso panela.



queso comercial hasta un 58.78% en el queso con 1.0% de chía, aunque no tienen diferencia estadística ((p≥0.5) (Figura 3).

Además de las altas propiedades funcionales y nutricionales de la chía, Vázquez-Ovando (2009), menciona también altas proporciones de fibra soluble e insoluble, con capacidad de retención de agua de 15.41 g/g, lo que sugiere el aumento en el porcentaje de humedad en los quesos pudiera estar relacionado con el contenido de fibra de la chía.

Conclusiones

La textura, nivel de agrado y contenido de humedad en los quesos tipo panela adicionados con chía, no fueron afectados con la adición de éstas semillas, lo cual es un aspecto favorable para la producción de un nuevo producto alimenticio, que además de sus propiedades nutricionales naturales, se mejoran sus propiedades funcionales como la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles, ácidos grasos del tipo omega y fibra. Se recomienda la continuación del estudio evaluando la capacidad antioxidante, contenido de polifenoles, ácidos grasos omega y fibra en el queso.

REFERENCIAS

Ahmed, M. B. y Mervat I. F. 2012. Sensory evaluation and antioxidant activity of new Mudaffara cheese with spices under different storage temperatures. J Appl Sci Res. 8(7): 3143-3150.

Álvarez, S., V. Rodríguez, M. E. Ruiz y. Fresno, M. 2007. Correlaciones de textura y color instrumental con la composición química de quesos de cabra canarios. Arch. Zootec. 56 (Sup. 1): 663-666.

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists International, Washington, USA, 1018p.

Anzaldúa, M.A. 1994. La Evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

Ayerza, R., y Coates, W. 2004. Composition of chia (*Salvia hispanica* L.), grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. Tropical Sci, 44(3);131-135.

Bodoira, M. R., Penci, M. C., Ribotta, P. D. y Martínez, M. L. 2017. Chia (Salvia hispanica L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. LWT - Food Sci Tech. 75:107-113

Fernández I., Ayerza R., Coates W., Vidueiros S. M., Slobodianik N. y Pallaro A. _N. 2006. Características nutricionales de la chía. Revista Comunicaciones breves 7(1):23-25.

Hernández-Sampieri, R., Fernández-Collado, C. y Baptista-Lucio, P. 2006. Metodología de la investigación. 4ª. Edición. McGraw Hill

Lawlor, J. B., Delahunty, C.M., Wilkinson, M.G y Sheehan, J. 2001. Relationships between the sensory characteristics, neutral volatile composition and gross composition of ten cheese varieties. Lait, 81: 487-507

Lebecque, A., A., Laguet, M.F., Devaux y Dufour. 2001. Delineation of the texture of Salers cheese by sensory analysis and physical methods. Lait, 81: 609-623.

Morales, L.J., Cassís, P.M.L. y García, B.L.G. 2003. Elaboración de un queso tipo "Cotija" con base en una mezcla de leche y garbanzo (*Cicer arietinum L.*). Arch Latinoam Nutr. 53 (2); 202-207.

Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994. Bienes y servicios. quesos: frescos, madurados y procesados y especificaciones sanitarias**.** Secretaría de Salud. www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/121ssa14.html

Ramírez L. C. y Vélez R. J. F. 2012. Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos 6(2): 131-148.

Silveira C. M., Salas M. M. 2014. Review: Chemical composition, functional properties and technological applications of chia (*Salvia hispanica* L) seeds in foods. Food technology, Campinas, 17(4): 259-268.

Statistica. 2007. Statistica. Release 7. Electronic version. Stat-Soft Inc.

Texture Analyser de Stable Micro Systems. 2016. Application studies. Texture Technologies.

Urango, M. L. A. 2012. Elaboración de un queso fresco semi-graso, adicionado con fructooligosacáridos (FOS). Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Facultad de Ciencias Agrarias. Colombia.

Urdaneta, R., Borregales, C., Bullón J. y Cárdenas, A. 2004. Effect of milk homogenization in yield and properties on soft ritening cheesse. Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia. 27(2), 75-82.

Vázquez-Ovando Alfredo, Rosado-Rubio Gabriel, Chel-Guerrero Luis, Betancur-Ancona David. 2009. Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). LWT - Food Sci Tech 42:168–173

Ingeniero Químico en Alimentos

PERFIL INGRESO

El aspirante a la carrera de Ingeniero Químico en Alimentos debe de poseer ciertas características para garantizar su permanencia y continuidad, estas so

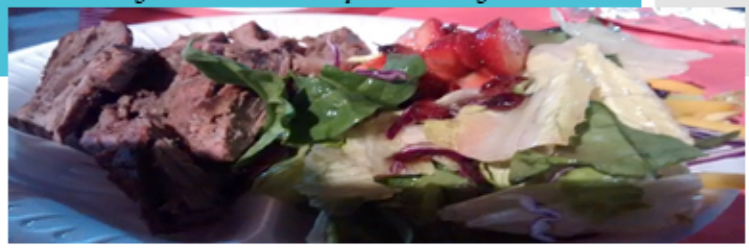
a) Conocimientos básicos e interés en las áreas de: Química, Física, Matemáticas y Biología
b) Habilidades: Creativo y observador, Capacidad para síntesis y análisis crítico, Afinidad y gusto por la investigación y el trabajo en el laboratorio.
c) Actitudes: Ser responsable, Perseverante y propositivo, Interés por el mejoramiento social, cultural y económico.

PERFIL EGRESO

El egresado de Ingeniero Químico en Alimentos tendrá los conocimientos para:

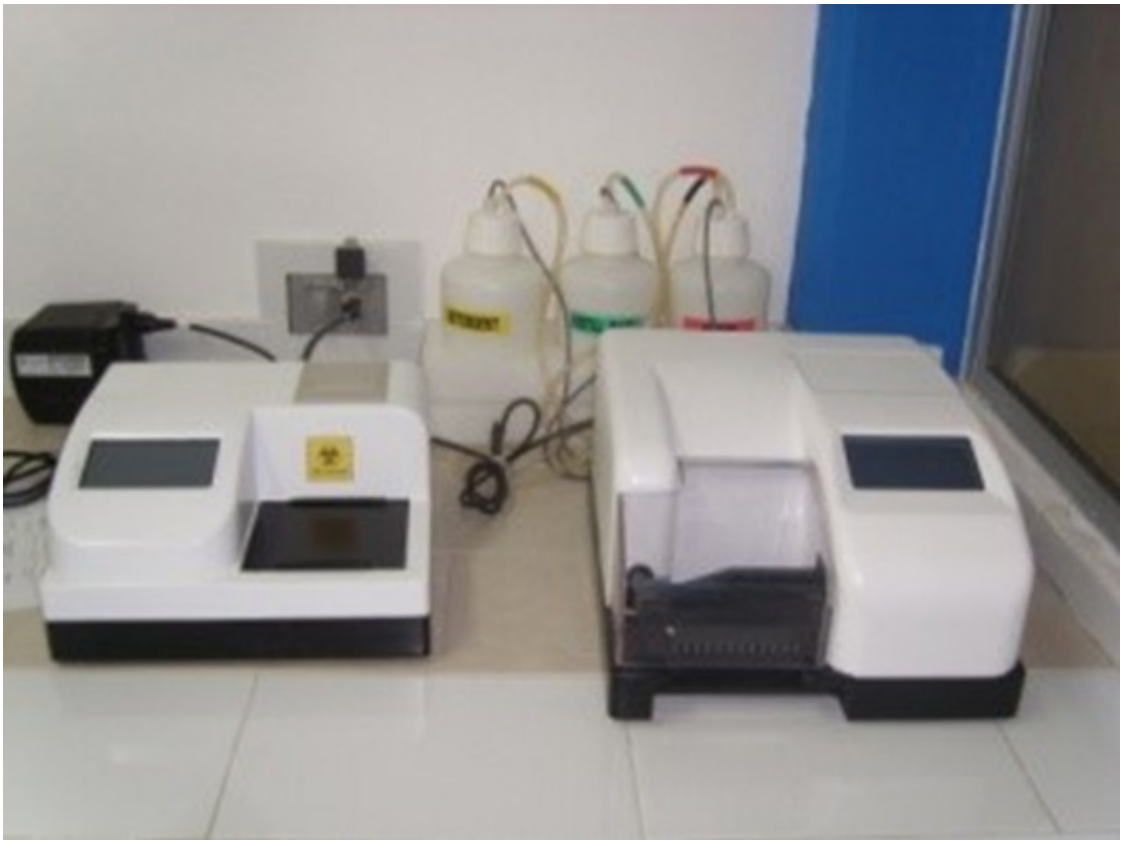
- Controlar, diseñar y analizar procesos fisicoquímicos y biológicos en alimentos.
- Adaptar mejoras en los procesos tecnológicos relacionados con la industria de alimentos.
- Desarrollar tecnología propia de procesamiento, conservación y empaque en el área de alimentos.
- Investigar y desarrollar de nuevos productos alimenticios.
- Aprovechar subproductos de las industrias alimenticias y agrícolas.
- Seleccionar y utilizar adecuadamente maquinaria, equipos industriales, de laboratorio y análisis de alimentos. Así como tener capacidad de proponer mejoras en los mismos.
- Crear nuevas empresas.
- Diseñar, interpretar y adecuar planes y programas para el control de la calidad en la industria de alimentos.
- También las habilidades para:
- Aplicar técnicas de procesamiento y conservación de alimentos: refrigeración, pasteurización, congelación, secado, etc.
- Dominar programas computacionales básicos, así como conocer procesos computarizados existentes en la industria de los alimentos.
- Realizar investigación de carácter básico y aplicado relacionada a las áreas de la ingeniería de los alimentos. Así como, el desarrollo de valores mostrados en:

Actitud emprendedora, con principios éticos y de responsabilidad, compromiso con el mejoramiento del medio ambiente y con deseos de capacitación y superación permanente.



QUÍMICA FARMACÉUTICA Y CLÍNICA

(Biotecnología, Toxicología, Farmaceútica, Clínica)



"Espera mil años y verás que se vuelve preciosa hasta la basura dejada atrás por una civilización extinta"
Isaac Asimov (1920-1992) escritor estadounidense.

Fundamentos del desarrollo de los anticuerpos como medicamentos biotecnológicos

*[*1]Segovia-Mendoza, M., [*2]Ambrosio, J.*

[1]Departamento de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México, D.F.

[2]Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, México, D.F.

*Autores corresponsales: *jrah@unam.mx, *monaco445@yahoo.com.mx*

Resumen

En los últimos años, la terapia farmacológica ha dado un giro vertiginoso en lo relacionado al desarrollo de nuevos fármacos; está dirigiendo mucha de su atención hacia el desarrollo y empleo de medicamentos biotecnológicos (también conocidos como biofármacos, fármacos biológicos o biofarmacéuticos). La razón de ello se debe a que este tipo de medicamentos se les puede diseñar con gran poder terapéutico, una alta especificidad y con efectos indeseables moderados. Por ello, en México, se estima que en los años por venir habrá una mayor variedad de este tipo de medicamentos; siempre y cuando se les apruebe por las instancias correspondientes. Aunque la mayor parte de biofármacos se emplean principalmente en el tratamiento de enfermedades de tipo canceroso, es inevitable que se irán generando otros con los que se puedan aliviar otras enfermedades no cancerosas. Los anticuerpos monoclonales (AcM) son los fármacos biológicos que se están usando ampliamente. Por estas razones, el objetivo de esta revisión es proporcionar los conocimientos básicos, la importancia en la salud y las consideraciones regulatorias de los AcM como biofarmacéuticos. Esta revisión también describe su estructura y composición, su rol biológico, las estrategias que se siguen durante su diseño y las razones por las que podrían desarrollarse otros anticuerpos para la terapia.

***Palabras clave**: Inmunoglobulinas, Anticuerpos monoclonales, Biofármacos, Medicamento Biotecnológico, Biomoléculas.*

Abstract

In recent years, pharmacological therapy has taken a dizzying turn in the development of new drugs, directing much of its attention to the development and use of biotechnology drugs (also known as biopharmaceuticals, biological or biopharmaceutical drugs). The reason for this is because these types of drugs can be designed with great therapeutic power, high specificity and with moderate undesirable effects. Therefore, in Mexico, it is

estimated that in the years to come there will be a greater variety of this type of compounds approved by the appropriate authorities. Although most biopharmaceuticals are mainly used in the treatment of cancerous diseases, it is inevitable that others drugs will be generated against to non-cancerous diseases. Monoclonal antibodies (MAbs) are biological drugs that are being widely used. For these reasons, the aim of this review is to provide the basic knowledge, the health importance and regulatory considerations of Mabs as biopharmaceuticals. This review also describes their structure and composition, their biological role, and the strategies that are followed during their design and the reasons under which other antibodies for therapy could be developed.

Key words**: Immunoglobulins, Monoclonal antibodies, Biopharmaceuticals, Biotechnology, Biomolecules.**

Introducción

Fármacos biológicos

Los biofármacos son de naturaleza, composición y comportamiento totalmente distinto a los fármacos convencionales, por lo que muchas de las formas de valoración convencionales no pueden ser utilizadas para evaluarlos. Entre las diferencias importantes se encuentran:

1. Peso molecular. Su peso molecular, en comparación con los fármacos convencionales, pueden ser diferentes hasta en mil órdenes de magnitud.

2. Complejidad. Son de mayor complejidad que los fármacos basados en sustancias químicas tan grandes como las vitaminas.

3. Inestabilidad o reactividad. Debido a su naturaleza proteica, la influencia del medio en el que se encuentren puede provocar cambios importantes en su constitución y composición.

4. Valoraciones específicas. La forma de evaluarlos es totalmente distinta a la de los fármacos convencionales dado que presentan una elevada actividad y dinámica farmacológicas; de la misma manera, presentan un comportamiento preclínico y clínico característicos que requieren de evaluaciones definidas.

Por las razones ya mencionadas, en México, en diciembre del 2014, se dio a conocer de manera oficial una reforma en materia de medicamentos biotecnológicos conocida como la Norma Oficial Mexicana 257 (NOM 257). Bajo esta norma, se establecen las nuevas reglas requeridas para la aprobación de medicamentos biotecnológicos de tercera generación **[1]**. La intención de esta regulación para este tipo de fármacos tiene como base el que se definan mejor las características, propiedades y evaluaciones de los biofármacos. La idea es que el uso de tales agentes farmacológicos en el mercado mexicano sea una forma de favorecer el que se ofrezcan mejores tratamientos medicamentosos que amplíen y mejoren

la calidad de vida de las personas. Con tal regulación, México ha entrado a la etapa del desarrollo y aplicación de biofármacos bajo una legislación la cual busca que se lleve a cabo una adecuada normatización de su producción y uso. Esta normatización tiene un alcance internacional fuera de México, ya que la COFEPRIS (la instancia mexicana que lleva a cabo la regulación de fármacos) se ha reconocido con esa calidad. La normatización tiene como base lo establecido en el artículo 222Bis de la Ley General de Salud de México, en donde se establece que "se considera como medicamento biotecnológico a toda sustancia que haya sido producida por biotecnología molecular, que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica, que se identifique como tal por su actividad farmacológica y propiedades físicas, químicas y biológicas". En el artículo mencionado, con la finalidad de que un medicamento biotecnológico innovador pueda ser registrado y comercializado, se establecen varios aspectos que se tienen que cubrir y que la COFEPRIS vigila y corrobora que se lleven a cabo de manera precisa:

- La monografía del biofármaco, su composición y su fórmula.

- El origen e historia del banco celular al cual va dirigido.

- El gene, la construcción del sistema de expresión, vector u hospedero para la proteína de interés.

-La caracterización relevante del genotipo y fenotipo.

- El resumen del proceso de fabricación del biofármaco.

- Los métodos analíticos de tipo físicos, químicos y biológicos que se utilizan para su análisis.

- El protocolo e información de la validación de la red o cadena de frío, etc.

Por lo que se observa ante estas disposiciones en la NOM 257, las autoridades tienen conocimiento y toman decisiones respecto al desarrollo y uso de los fármacos biológicos en las que ellos saben de sus características generales de diseño, de síntesis, de producción y de control de calidad de las proteínas involucradas **[1]**.

Aunque en México aún son pocos los biofármacos que se utilizan en las terapias medicamentosas, varios aún están en la fase de aprobación y por lo tanto a espera de su uso; a nivel mundial hay una cantidad creciente continua de nuevos medicamentos biotecnológicos como se puede apreciar en lo establecido en el 2014, tanto en los Estados Unidos de Norteamérica como en Europa **[2]**. Entre este tipo de fármacos se encuentran factores sanguíneos, citocinas, enzimas, vacunas recombinantes, productos trombolíticos, anticoagulantes, hormonas, factores de crecimiento, proteínas morfogénicas de hueso, proteínas de fusión y AcM. Sin embargo, por lo novedoso con que incursionan en la terapia medicamentosa,

aun cuando el crecimiento y producción de los biofármacos es casi exponencial, varios de ellos tienen que ser retirados de la comercialización porque no producen los efectos esperados o su costo de producción y aplicación resultan muy elevados. Por ello, otros nuevos surgen y lo cual va del acompañamiento con que se dan los nuevos conocimientos científicos.

Por lo anteriormente, como parte de la presente revisión y con la finalidad de ofrecer un panorama completo de lo que se requiere tener de conocimiento para comprender lo que incluye la NOM 257, en lo referente a los AcM (identificados genéricamente por la terminación -mab derivada del inglés "monoclonal antibodies"), nos proponemos presentar las bases de las características generales de las proteínas para su uso terapéutico. Luego, se hará hincapié en el estado del arte referido al tipo, uso, control, producción industrial de estos agentes terapéuticos, así como se tocarán algunas de las limitantes de su uso.

El ciclo de vida de las proteínas

A partir de la información genética ofrecida por el DNA que se encuentra en el interior del núcleo celular, numerosas biomoléculas son codificadas como proteínas. Dicha información genética es crucial para determinar la forma, el tamaño, la localización y la función de estas biomoléculas. Por estas causas, mediante la aplicación de herramientas de ingeniería molecular y el empleo de sistemas celulares que permiten la expresión y producción de proteínas con características particulares, es posible llevar a cabo la manipulación experimental del material genético con lo que es posible la producción de proteínas definidas, en las cantidades necesarias y con funciones que se precisan de ellas **[3]**. Por ello, las mejoras en las biomoléculas aumentan su función, o bien, su potencial terapéutico como en el caso de los anticuerpos.

A nivel de DNA se encuentra codificada la información que dá origen a la producción de las proteínas; el material genético compuesto de bases púricas y pirimidínicas se estructura de cierta forma que al ser leído es interpretado y, luego, la información generada en forma de mensajeros de RNA viaja desde el núcleo celular hacia el citosol celular hasta los ribosomas; ahí, una vez que la información se interpreta, se transforma y ello determina cuáles serán los aminoácidos que vendrán a constituir los péptidos con los que se formarán las futuras proteínas. Después, cuando ya han sido formados los péptidos, estos se asocian entre ellos dentro de otros compartimientos celulares (como el aparato de Golgi o el retículo endoplásmico) y, con ello, se lleva a cabo la formación de las proteínas. Cuando las proteínas ya han sido formadas, salen de las células y comienzan a llevar a cabo las funciones para las cuales fueron preparadas. Sin embargo, aun cuando las proteínas ya estén formadas, aún no han madurado totalmente y podrían sufrir una subsecuente modificación que definirá su

función, su constitución, su localización o su destino, así como su destrucción por los mecanismos intracelulares que se presenten. Este proceso de maduración, en los que las proteínas nacientes o ya formadas sufren cambios o alteraciones que son determinantes para su función final se les conoce como eventos que producen modificaciones postraduccionales de las proteínas. Estos eventos generan que las proteínas puedan seguir sufriendo cambios que alteran sus características originales, por lo que pueden convertirse en un blanco farmacológico, o inmunológico, o bien, adquirir otras funciones distintas a las originalmente definidas para ellas. Estos cambios podrían ser generados o inducidos por influencia del medio o del manejo que se realice de estas biomoléculas y que podrían inducir modificaciones nuevas como agregación, desnaturalización, fragmentación, desaminación y oxidación; las cuales son modificaciones que podrían conferir nuevas características a las proteínas y que podrían alterar las características con las que inicialmente se produjeron como es el caso de los anticuerpos **[4]**.

Entre las influencias que inducen cambios en las proteínas se encuentran las condiciones ambientales a las que se les sometan o, bien, al manejo que de ellas se haga. Por lo consiguiente, para que una proteína producida mantenga sus características definidas (y se requiere que se mantenga así siempre) deberá ser conservada a temperaturas entre 2 y 8 °C, preservada en una solución amortiguadora definida para sus propiedades y, en muchos de los casos, libre de otras proteínas o sustancias que induzcan su degradación y lo cual lleva al fenómeno conocido de proteólisis.

Las inmunoglobulinas

Los seres humanos llevan a cabo la síntesis de múltiples proteínas con las que se les permita cubrir sus diferentes necesidades; como en el caso de la respuesta inmunitaria, en donde las inmunoglobulinas (Ig´s) juegan un papel relevante en el control de infecciones producidas por agentes patógenos. Como su nombre lo indica, las Ig´s reciben este nombre

Tabla 1. Tipos de Ig's [6]

Tipo de Ig's	Estructura	Cruza placenta	Funciones inmunológicas	Concentración sérica (%)
IgG	monomérica	Si	Respuesta secundaria, neutralización de toxinas y virus	75-80
IgM	pentamérica	No	Respuesta primaria	5-10
IgA	monomérica y dimérica	No	Respuesta en mucosas	10-15
IgD	monomérica	no	homeostasis	<0.5-1
IgE	monomérica	no	alergias	<0.01-0.05

porque a estas proteínas se les encuentra en el suero sanguíneo, que ha sido sometido a un fraccionamiento electroforético, en la fracción correspondiente a las globinas. Dado que estas proteínas están asociadas con el papel protector de poder neutralizante frente a organismos patógenos, se les ha designado como anticuerpos (Ac´s). Sin embargo, en un contexto más amplio, se considera que los Ac´s son aquellas moléculas proteicas con importantes efectos biológicos en contra de los antígenos (Ag) de los patógenos a los que han reconocido específicamente y por ello, tienen poder de neutralización de los mismos. La interacción con los antígenos, su concentración, el tipo de microorganismo contra el que actúan, así como por las características moleculares de los Ac´s; éstas biomoléculas se clasifican en diferentes tipos y funciones como se muestra en la **Tabla 1 [5].**

Estas proteínas también son conocidas como anticuerpos y, como un acuerdo convencional, se consideran sinónimos; sin embargo, desde el punto de vista estricto de la respuesta inmune, es en los anticuerpos en donde se lleva a cabo la verdadera función de neutralización de los antígenos.

Los anticuerpos y su producción a nivel celular

Los anticuerpos son producidos por un tipo de células de la respuesta inmunitaria conocidos como linfocitos B (LB). Estas son células que se generan, maduran y se afinan en la médula ósea; de ahí, cuando maduran, viajan todo el organismo a través de la irrigación sanguínea (o de la irrigación linfática) y de ahí alcanzan los ganglios linfáticos en donde interactúan con los antígenos. Durante el proceso de maduración, el DNA de los linfocitos sufren cambios en donde los genes responsables para generar los anticuerpos se recombinan varias veces y gracias a este fenómeno, los anticuerpos desarrollan la capacidad de interactuar con muy alta especificidad con los antígenos. Tal es la capacidad de generar el número necesario de anticuerpos para reconocer a todos los antígenos con los cuales se enfrenten, que la especificidad permite discernir que LB podrían reconocer antígenos propios y con ello evitar una autoinmunidad con la destrucción o supresión de la actividad de los linfocitos. El número de anticuerpos que se puede generar en contra de los antígenos extraños es tan alto, que podrían generarse anticuerpos para antígenos hacia los que los humanos nunca podrían tener acceso. La capacidad de la respuesta inmune de generar anticuerpos con alta especificidad hacia sus antígenos, así como de interactuar bien con ellos, es conocido como la respuesta inmune humoral **[6]**.

Varios fueron los sucesos de gran impacto en la medicina a través de la inmunología, enfocada principalmente al campo del conocimiento de los anticuerpos, y los cuales fueron: 1. Cuando se estableció que las únicas células que sintetizaban los anticuerpos eran los LB. 2. Cuando se determinó cual era la forma en que los anticuerpos eran diseñados a partir del material nucleico de las células sanguíneas precursoras de los LB. 3. La dinámica

ingenieril nuclear que favorecía la generación de la diversidad de los anticuerpos frente a todos los diferentes tipos de antígenos a los que se enfrentaran las células. 4. Se determinó que la producción de los anticuerpos era dependiente de una selección clonal, esto es, a partir de un solo linfocito B se produce un solo tipo de anticuerpos (lo cual se conoce como monoclonalidad) y, por lo consiguiente, como en un individuo se producen muchos anticuerpos ante una infección, se denominó que la respuesta inmune humoral que se presenta es de tipo policlonal. 5. El desarrollo de los AcM de origen murino mediante la obtención de hibridomas que involucraban la fusión de LB y células de mieloma murino. Este último suceso será ampliamente explicado a continuación por la importancia que reviste para los fines de esta revisión.

Como se ha indicado, uno de los mayores sucesos de la medicina fue el logro de la producción de los AcM mediante el empleo de sistemas ajenos al organismo. La forma en que los AcM son diseñados y sintetizados permite que se produzcan los necesarios con la capacidad de reconocer porciones tan específicas y únicas de los antígenos, las cuales también son denominadas como epítopos o determinantes antigénicos. La importancia fundamental de la diferencia de los anticuerpos producidos de forma natural en la respuesta inmune humoral de los individuos que sufran una infección, es que mientras los anticuerpos así generados son de naturaleza policlonales porque en un solo antígeno tienen la capacidad de reconocer varios epítopos y la forma natural de la producción de los mismos es a través de una respuesta inmune humoral de tipo policlonal **[7].** Luego entonces, debido a que ya se cuenta con un conocimiento de la forma en que se puede diseñar, sintetizar, producir, generar anticuerpos que reconozcan muy específicamente a sus blancos y, además, existen sistemas celulares que favorecen de forma eficiente todas estas condiciones; en la actualidad ya es posible producir los anticuerpos bajo estrategias de biotecnología. Con estas estrategias ya se pueden cubrir varias de las necesidades que se tengan de desarrollo de anticuerpos y, mediante ello, ya se pueden emplear los anticuerpos generados no sólo para controlar procesos infecciosos, sino también de otros aspectos no infecciosos como la diseminación de procesos cancerosos mediante neutralización de su antígenos. Esta capacidad de generar anticuerpos a demanda para necesidades de terapia ha dado un giro vertiginoso para su empleo en la terapéutica medicamentosa y por ello, actualmente cuando se usa para estos fines, se les considera como biofármacos, fármacos biológicos o bien, medicamentos biotecnológicos.

Estructura molecular de los Ac

En lo que se refiere a su estructura molecular, todas las Ig´s son glicoproteínas con una estructura característica: tienen una forma semejante a una "Y" y son heterodímeros constituidos por dos cadenas pesadas y por dos ligeras como se muestra en la figura 1. Estas cadenas tienen sus extremos amino y carboxilo terminal y, en la mayoría de las

variantes de Ig´s, las cadenas están unidas por enlaces disulfuro. Tanto las cadenas pesadas como las ligeras están constituídas por dos regiones; la región constante (ó Fc del inglés "Fragment constant") donde radica la actividad biológica de las Ig´s y la región variable que interactúa con los determinantes antigénicos (ó Fab del inglés "Fragment of antigen binding"). El concurso de los extremos amino terminal de ambas cadenas genera el sitio de reconocimiento específico hacia los epítopos de los antígenos (también conocido como dominio CDR del inglés "Complementary-Determining Region"), sitios los cuales se localizan en la región variable de ambas cadenas. Como ya se indicó, los enlaces disulfuro intracadena favorecen el que la estructura conformacional de las Ig´s y ello brinda el que cuando interaccionen con los antígenos y se conviertan en anticuerpos, lo hagan mediante el reconocimiento de los mismos en la porción superior de la "Y"; dado que son dos sitios de reconocimiento (cada uno reconoce a un epítopo de un mismo antígeno), ello implica que un Ac reconoce a los antígenos de forma bivalente. La estructura conformacional de los Ac los hace tan versátiles que al mismo tiempo cuando están interactuando con los antígenos, pueden estar interactuando con sus regiones Fc con receptores específicos de anticuerpos presentes en otro tipo celular como las células naturales asesinas. O bien, si tales Ac no se unen a dichos receptores, pueden estar interactuando con otras moléculas séricas que participan en la respuesta humoral (tales como componentes del complemento) y ello favorecer activación celular o inducción a respuestas de tipo inflamatorio. Este tipo de respuestas se amplifican cuando los

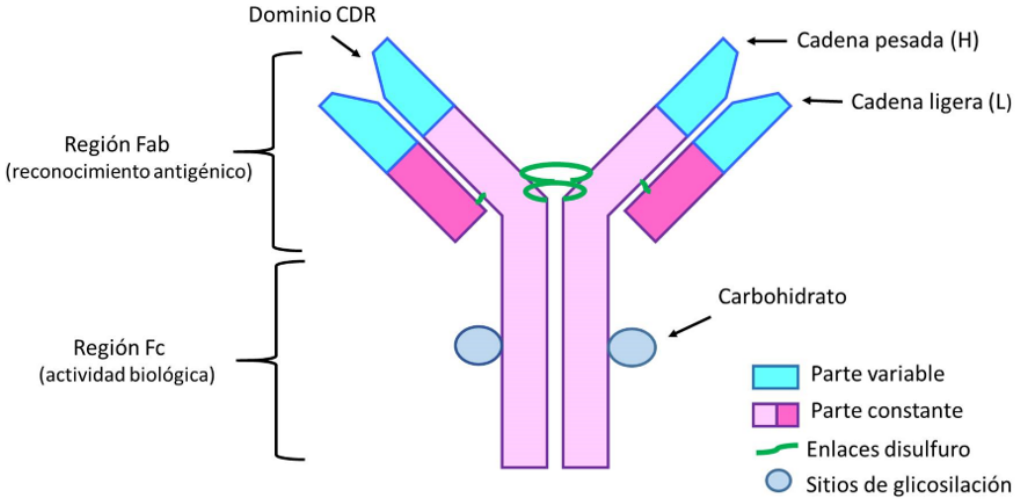


Fig. 1. **Esquematización de un anticuerpo**. En rosa pálido se observan las cadenas pesadas (H), mientras que en rosa mexicano se muestran las cadenas ligeras (L). La región azul agua indica el sitio de reconocimiento del antígeno (Dominio CDR) que están localizados en la región amino terminal de las cadenas. Los puentes disulfuro están esquematizados en color verde y en azul grisáceo los sitios de glicosilación que contienen a los carbohidratos característicos de los diferentes tipos de Ig's.

anticuerpos forman complejos o se unen entre ellos, como en el caso de las IgM, que permiten aumentar la interacción con más epítopos de los antígenos **(Fig. 1) [7, 8].**

Es importante el destacar que en lo que se ha descrito de las funcionalidades de los Ac, se ha referido a que estos se encuentran en forma soluble en el suero sanguíneo porque ya han sido liberados desde los LB que se han diferenciado a plasmocitos. Sin embargo, durante el proceso de maduración de los LB, las moléculas de Ig se encuentran ancladas a estas células y por estas características adquieren la capacidad de fungir como receptores de antígenos con lo que son excelentes sistemas de transmisión de señales al interior de los LB, con lo que estos se activan y son inducidos a expandirse y dividirse clonalmente **[5]**.

Mecanismo de acción de los anticuerpos

Los Ac´s tienen su principal forma de acción luego de que interaccionan con los Ag y por estas causas, si los Ag son adecuadamente reconocidos podrían sufrir alguna alteración estructural de sus moléculas con lo que perderían alguna actividad biológica, o bien, simplemente podrían ser neutralizados y se dañaría su capacidad de interaccionar con algún sitio blanco y dejar de producir algún efecto por ello. Por ejemplo; si el antígeno fuera un receptor específico que encuentra localizado en la superficie de las células blanco, la interacción de los Ac´s con estos receptores podría ser un proceso mediante el cual se interfiriera con procesos asociación de tales receptores de tal suerte que se impida su dimerización, internalización o posterior activación. Los Ac´s en este caso reconocerían a los antígenos mediante su región Fab. Mientras que, si los anticuerpos reaccionan en fase soluble con los antígenos, la formación de complejos antígeno-anticuerpo puede alcanzar sitios en los que los Ac´s interactúen con las células que los contienen a través de sus regiones Fc y, de esa manera, el complejo es removido de la circulación y destruido en el interior de la célula.

Se ha demostrado que sobre la superficie de células fagocíticas (tales como macrófagos, neutrófilos y células dendríticas) los Ac´s pueden ser enlazados por su región Fc, se unen a un receptor que los reconoce por esta porción y ello favorece la activación de tales células con lo que se llevan diversas acciones como la destrucción de los complejos, secreción de mediadores que pueden favorecer la inducción a la inflamación o bien, hasta la posible activación de otras poblaciones celulares que pueden secretar sustancias con poder destructivo tales como inducción de muerte celular, apoptosis o fagocitosis. También los Ac´s tienen el poder de activar otros sistemas de amplificación de respuesta humoral como la inducción a la activación de la cascada del complemento sérico con lo que se activan tanto la inflamación como la destrucción celular mediante la formación de poros en la superficie de las células blanco y con ello inducir su muerte celular **[9]**. Estas acciones de los anticuerpos los presentan como moléculas poderosas que no sólo

tiene importancia para neutralizar objetivos, también tiene importancia por el grado de amplificación de respuesta que pueden potenciar e inducir. Si se suma a su poder de acción como lo que se ha descrito, la capacidad de estas moléculas de ser combinadas con otras moléculas como agentes radioactivos o venenos; los anticuerpos se convierten en armas poderosas que pueden ser dirigidas eficientemente hacia un blanco definido. Por estas causas, en algún momento se acuñó el término de "balas mágicas" por el uso que se podría dar de los Ac´s y que está muy relacionado con su poder como agentes terapéuticos.

Diseño y generación de AcM

La forma más simple para la producción de los Ac´s es mediante la inmunización repetida de animales, generalmente ratones o conejos, con el antígeno de interés y posterior recuperación del suero hiperinmune que contiene los anticuerpos policlonales. Desafortunadamente, para fines terapéuticos en el hombre, este tipo de Ac no pueden ser empleados por los daños severos que se generarían, ya que al emplear este tipo de Ac producidos en especies distintas inducen graves reacciones alérgicas **[10]**. Sumado a ello, la forma de inmunización no permite generar anticuerpos que tengan la fineza del reconocimiento que se espera hacia los antígenos contra los que se desean preparar. Por ello, cuando se dio el desarrollo de anticuerpos monoclonales en ratón en el año de 1975 por Köhler y Milstein, se abrió la puerta para diseñar y generar los anticuerpos con las necesidades requeridas: el éxito estuvo basado en el logro de la fusión de células de mieloma murino con LB obtenidos de bazos de ratones inmunizados y la obtención de hibridomas. Estos hibridomas que se producen mantienen las características de inmortalidad de las células tumorales y la capacidad de los LB para producir AcM de forma continua y con una misma calidad **(Fig. 2) [11]**. Sin embargo, aunque esta estrategia se continua empleando para prevenir el rechazo de transplante renal mediante el empleo del AcM murino anti-CD3 (muromomab CD3 ó OKT-3), se ha tenido que buscar la manera de producir otros AcM que no sean reconocidos como extraños y se monte una respuesta inmune por parte de los individuos tratados y con ello generen una reacción inmunogénica que provoca que los Ac´s de origen murino sean rápidamente eliminados. Por estas causas se han fortalecido los esfuerzos para favorecer la calidad de los AcM producidos con lo que se ha buscado reducir su inmunogenicidad y mejorar su uso terapéutico. Esto ha repercutido de forma importante en el mercado farmacéutico y se transformó en un éxito comercial creciente **[4, 12]**.

Gracias a los avances en el campo de la biología molecular (especialmente lo relacionado con la ingeniería genética del DNA recombinante), durante el periodo de 1980-1990, no solo se logró definir en qué cromosomas del genoma humano se encontraba codificada la información genética precisa para generar las Ig`s; también se logró

definir que las cadenas que conforman a estas Ig´s están codificadas por segmentos génicos que requieren procesamientos definidos para favorecer la formación del material genético mediante el que se generan tales cadenas. Luego, con el conocimiento de la ingeniería genética, se hizo factible llevar a cabo la clonación de los genes completos que codifican para las regiones variables y constantes de las Ig´s para lo cual ya se llevó a cabo el empleo de vectores como virus, así como de bacterias y del mejoramiento en el conocimiento del manejo de cultivo in vitro de diferentes tipos de células. De esta manera; la producción de AcM se ha convertido en una estrategia de gran reproducibilidad que ha impactado en el menor empleo de animales de experimentación, producción a gran escala en menores tiempos y mejoramiento en la calidad de los Ac producidos. Una de las técnicas novedosas de ingeniería genética es la amplificación de los segmentos génicos que codifican para las cadenas pesadas y ligeras de las Ig´s mediante amplificación génica (PCR)-transcripción inversa; las células B clasificadas como células activadas mediante su identificación por fluorescencia, son posteriormente distribuidas en placas, luego lisadas y seguido a ello, se realiza la transcripción inversa del ácido ribonucleico mensajero de una sola célula para amplificar la información génica de las cadenas tanto pesadas como ligeras por separado. Luego, los segmentos génicos obtenidos son clonados en vectores de expresión con diferentes marcos de lectura con las regiones constantes

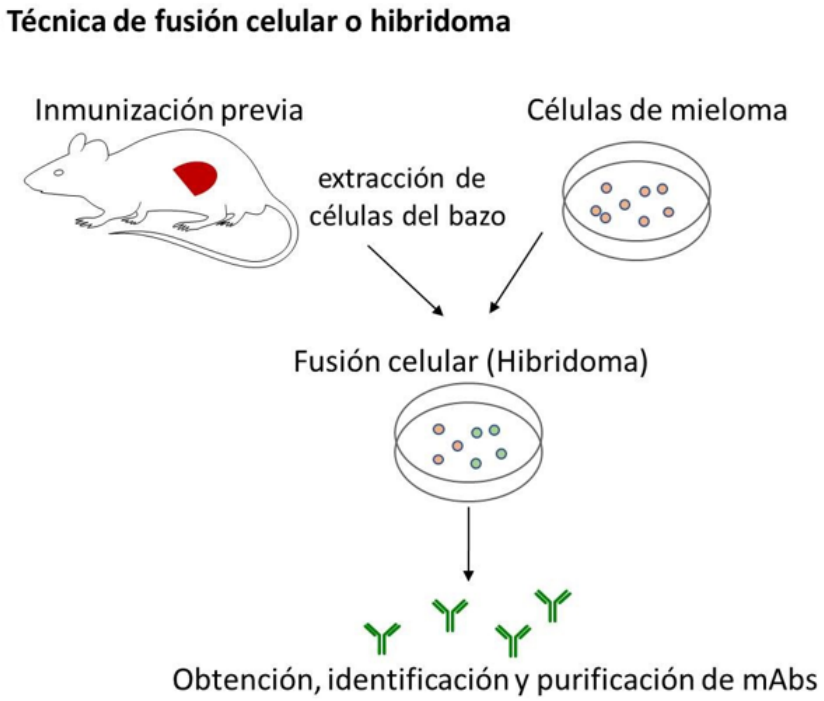


Fig. 2. Técnicas de obtención de AcM. La figura esquematiza las principales técnicas para la obtención de AcM. **A) Técnica de fusión celular o híbridoma**. Esta técnica se basa principalmente en la inmunización de animales con el antígeno de interés, extracción de las células B del bazo de los animales y la fusión con células de mieloma para su inmortalización para posteriormente obtener AcM.

apropiadas y ambas cadenas se inducen a que se coexpresen con lo que se logra reconstituir la molécula de Ig con actividad de Ac porque tiene la capacidad de reconocer a su Ag para el que fue diseñado. Finalmente, los AcM resultantes se analizan determinando la secuencia, la especificidad hacia antígeno y actividad biológica **(Fig. 2) [2, 5, 13].**

No solo ha sido un suceso el generar Ac´s de la forma descrita, con el advenimiento de otras nuevas tecnologías, se ha logrado reducir la inmunogenicidad e incrementar la vida media de algunos anticuerpos en el suero de humanos. Esto se ha logrado mediante la producción de Ac´s quiméricos; este tipo de Ac´s se generan por la fusión de dominios variables de las Ig´s murinas, en las cuales radica la actividad biológica de esta proteínas, con los correspondientes dominios constantes de Ig´s humanas. Luego, los Ac´s así generados ya son Ac´s humanizados porque de esta forma no son rechazados durante su utilización en terapia en humanos **(Fig. 2)**.

Para el proceso de humanización de anticuerpos también se hace uso de la técnica de visualización o biblioteca de bacteriófagos, conocidos como fagos (virus que infectan bacterias). Mediante esta técnica, un gene que codifica una proteína de interés es insertado

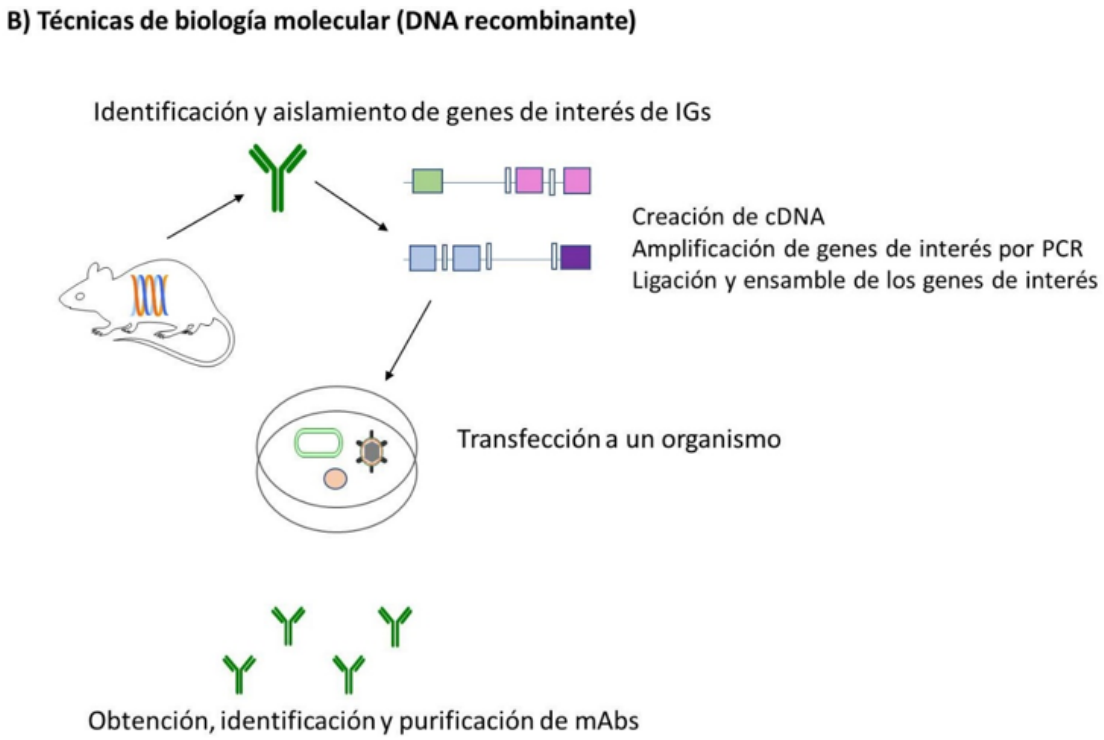


Fig. 2. Técnicas de obtención de AcM. La figura esquematiza las principales técnicas para la obtención de AcM. **Técnicas de biología molecular**. Para la obtención de AcM por estas técnicas es necesario identificar los genes de interés de las inmunoglobulinas (Ig's) blanco, posteriormente se genera el DNA complementario (cDNA), el cual servirá como plantilla para generar muchos fragmentos de los genes de interés (amplificación por PCR). Una vez obtenidos los fragmentos, se transfectan en un organismo (virus, bacteria o célula) el cual servirá como vector para la producción de AcM.

en un gene de la cubierta del fago y de tal manera que el fago terminará expresando y "mostrando" la proteína en su exterior mientras retiene el gene de interés en su interior. Por ello, diversas bibliotecas de péptidos (provenientes de genes de interés) pueden ser expresadas en la superficie de fagos, **(Fig. 2)**. Con esta técnica se desarrolló el primer AcM completamente humano (conocido como adalimumab), el cual tuvo su aprobación para uso en humanos en el año 2002, y está dirigido contra el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) y por lo consiguiente es utilizado en procesos autoinmunes e inflamatorios severos. Por las características de presentación de los Ac´s así generados, la estrategia se emplea para determinar las interacciones de afinidad de ligando-proteína y clonación de anticuerpos con lo que ofrece ventajas para mejorar la rapidez de obtención de AcM con alta afinidad. Usando la misma estrategia de visualización por fagos, se ha implementado otra estrategia innovadora que busca mejorar la calidad de los Ac´s para uso terapéutico, ella se basa en que en lugar de presentar las moléculas enteras de los AcM se genere la presentación, pero de fragmentos de los Ac´s. En esta estrategia se busca que los fragmentos presentados mantengan la capacidad de neutralizar a los Ag y por ello se les ha definido como minianticuerpos o nanoanticuerpos. Estos fragmentos pueden estar conformados por solo un dominio del anticuerpo, ya que no requieren el ensamblaje de las dos cadenas de las Ig´s, y entre éstos se encuentran; los fragmentos Fab, fragmentos Fv (del inglés "Fragment variable"), fragmentos scFV (del inglés "single chain fragment variable"), dianticuerpos, anticuerpos biespecíficos o bivalentes, los cuales no sólo pueden tener utilidad para la terapia, sino también pueden ser empleados en aspectos de diagnóstico. Estos fragmentos al ser expresados en la superficie del fago, no

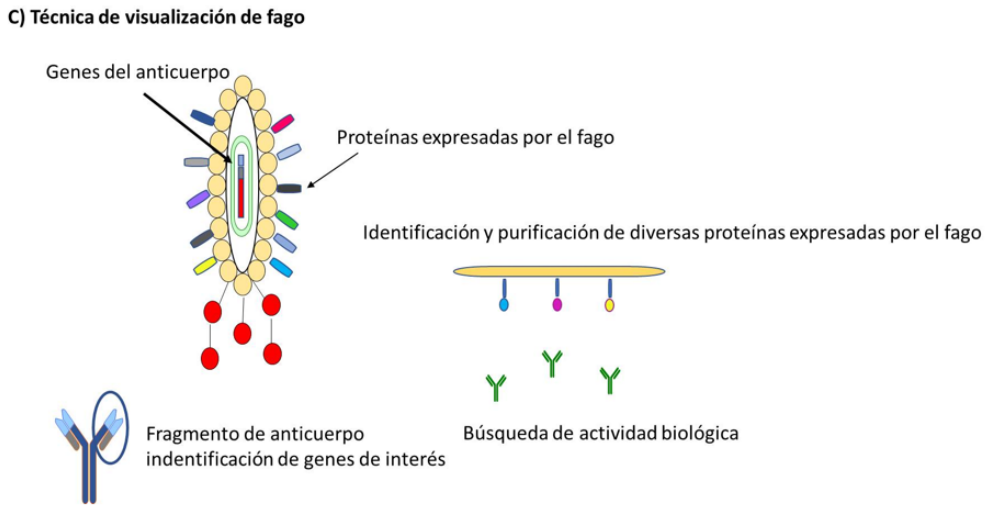


Fig. 2. **Técnicas de obtención de AcM.** La figura esquematiza las principales técnicas para la obtención de AcM. **C) Técnica de visualización de fago**. En esta técnica se identifica el o los fragmentos de interés del anticuerpo y los genes que lo o los codifican, en seguida los genes son insertados a la maquinaria transcripcional del fago, posteriormente, en la cubierta del fago serán expresadas múltiples proteínas de los fragmentos de interés de los AcM.

comprometen la afinidad de los anticuerpos hacia su determinante antigénico.

Los mayores sucesos por el empleo de los fragmentos de las Ig´s indicados es que cuando se les emplea se observa que presentan una rápida circulación sanguínea, buena penetración en tejidos, baja inmunogenicidad, baja retención en riñones y órganos no blanco, así como mejor infiltración en tumores. Su construcción es más simple, representan costos menores en su producción y se les puede producir a gran escala. Su peso molecular está localizado entre los 15 a 55 KDa, mientras que las moléculas completas de los Ac´s pesan alrededor de los 150 KDa **(Fig. 3) [2, 14].** Adicionalmente, los fragmentos de anticuerpos pueden ser intracuerpos porque se les puede introducir en las células blanco para reconocer una Ag específico y generalmente son fragmentos Fv de las Ig´s tipo G que reconocen a un antígeno específico. Gracias a esta capacidad de ser introducido al interior de las células, los intracuerpos se unen directamente a blancos intracelulares y con ello pueden bloquear la función de proteínas citosólicas y nucleares, así como, la secreción de proteínas.

Producción industrial de los AcM como agentes terapéuticos

Como se visualiza, las diferentes características de producción y diseño de los AcM han revolucionado la noción y la

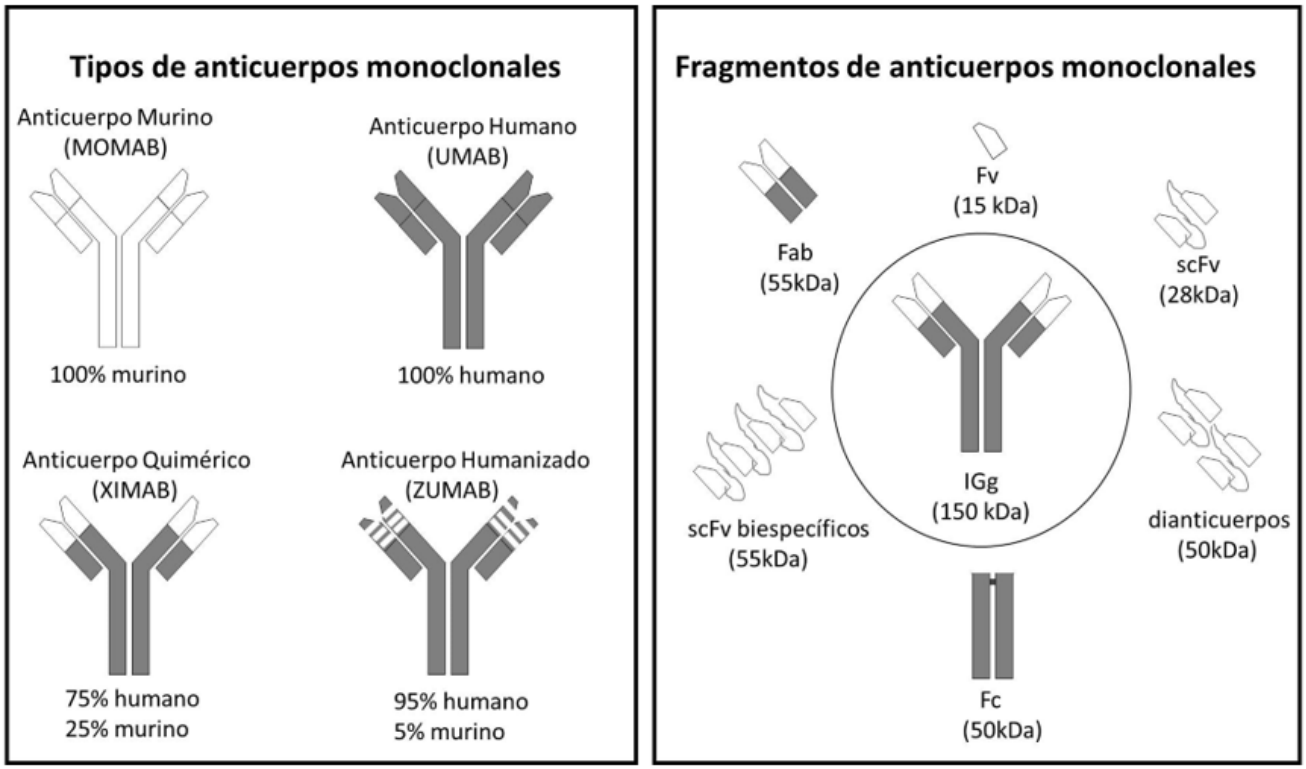


Fig. 3. A) Tipos de AcM. La figura muestra los diferentes tipos de AcM y el porcentaje de parte humana o murina que contienen, así como el sufijo que se les atribuye en su nombre dependiente de esta composición. **B) Fragmentos de AcM**. La figura muestra los diferentes fragmentos de AcM que derivan de la estructura del anticuerpo monoclonal convencional.

visión de la terapéutica medicamentosa con fármacos biológicos. Ello ha impactado de forma importante el aspecto económico de la industria farmacéutica porque el empleo de este tipo de biofármacos ha dejado ganancias reportadas que van de 11 billones de dólares en el año 2004 a 26 billones de dólares en el año 2010 en países como Estados Unidos **[15].** Ello sigue creciendo de forma exponencial aun cuando en la actualidad son sólo un número reducido de anticuerpos terapéuticos aprobados para su uso en terapia medicamentosa **[4]**.

Principalmente se les ha enfocado para el tratamiento de diferentes patologías relacionadas con enfermedades autoinmunes, inflamación, cáncer, infertilidad, aunque poca atención se ha puesto en enfermedades de tipo infeccioso **[16-18].**

No sólo se han empleado a los AcM para fines medicamentosos, también, en el ámbito de investigación y diagnóstico su uso ha sido fundamental para generar medios de diagnóstico simples y muy eficientes que permiten avances médicos y la identificación de moléculas de diferentes tipos **[19-21].**

Consideraciones de carácter regulatorio para los productos biológicos

Dada la necesidad de usar los Ac´s como fármacos biológicos y dado que tienen que darse las condiciones para aprobar su uso, ello ha generado la necesidad de tener aspectos de carácter regulatorio a los que se tienen que apegar dichos biofármacos. Entre las necesidades que tienen que cubrir para su aprobación terapéutica, los biofármacos deben tener una medición de su estabilidad biológica y, sobre todo, de la inmunogenicidad que presenten por ser proteínas. Esto es, debe tenerse un conocimiento exacto del tipo de respuesta inmune que podría desencadenar su administración en el organismo, que se cuente con información que indique su sistema de expresión de origen, las modificaciones post-traduccionales que pueden derivar debido a su naturaleza proteica, las impurezas y contaminantes que puedan contener, la genética del paciente y su administración, así como, la formación de agregados o precipitados. También existen guías de carácter regulatorio para el uso de anticuerpos en la fabricación o purificación de un fármaco **[22-24].** En el caso de México (a través de la Norma Oficial Mexicana o NOM 257 actualizada a finales del año 2014), se tiene la preocupación que de los biofármacos se tenga la mejor información que permita su adecuado manejo y uso terapéutico. Es de tenerse en cuenta que una regulación y conocimientos como los que se indican permitirán controlar de forma eficiente el uso de los Ac´s, sobre todo cuando se les utilice como agentes de liberación de sustancias con poder citotóxico para que estas mantengan su actividad y seguridad **[25]**.

Pruebas de inmunogenicidad

Como ya se indicó, uno de las mayores preocupaciones en el uso de los Ac´s como biofármacos es la inmunogenidad que ellos puedan tener. Esto se debe a que la generación

de respuestas secundarias o inmunes hacia este tipo de medicamentos biotecnológicos puede alterar su función, eficacia y seguridad clínica. Por ello, es necesario que se les someta a pruebas específicas durante su desarrollo y que se encuentran reguladas a nivel oficial. Como en el caso de todos los productos farmacéuticos, su regulación la realizan instituciones gubernamentales como la Administración de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration o FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica, la Agencia Europea de Medicamentos (European Medicines Agency o EMA) de Europa y la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) de México. Estas agencias proporcionan requisitos y guías por escrito para ayudar y regular a los fabricantes durante el desarrollo, eficacia clínica y estudios farmacodinámicos y farmacocinéticos de los medicamentos y que en cuando se satisfagan todos los requisitos que se solicitan, los biofármacos podrán ser aprobados para su comercialización y uso terapéutico. **[26].**

Generalmente, las pruebas de inmunogenicidad son realizadas en modelos animales a pesar de que los efectos observados pudieran no ser los esperados en humanos. La valoración de la inmunogenicidad, de las reacciones cruzadas y de la toxicidad de los productos biológicos resulta ser vital en este tipo de modelos. Sin embargo, la inmunogenicidad de los productos biológicos no solo debe ser evaluada en modelos animales sino también deben llevarse a cabo estudios clínicos en pacientes. En los estudios, se sugiere la toma de muestras sanguíneas antes y durante el estudio clínico para la detección de los posibles niveles de anticuerpos detectados. Con ello se determinar cuál es la respuesta inmune humoral detectada al inicio del tratamiento, así como se determinan la variación de los niveles de anticuerpos generados tras las administraciones repetidas de los biofármacos. En los estudios debe tenerse especial cuidado en que la administración de los Ac´s pueda neutralizar alguna proteína endógena que produzca como resultado un efecto tóxico indeseable. Por lo cual, una limitación sobre la interpretación de los resultados cuando se presenta este tipo de efectos puede ser la susceptibilidad o alguna condición patológica que tenga el paciente, lo cual puede enmascarar el análisis de los mismos. Además, al momento de analizar la concentración de anticuerpos pudieran interferir algunas proteínas que puedan ser estructurales o funcionalmente relacionadas al anticuerpo de interés, lo cual generaría falsos positivos. Como complemento a las pruebas de inmunogenicidad, las pruebas de la capacidad de neutralización de los productos biológicos también son requisitos de rutina solicitados por la FDA.

Como se aprecia en la **Tabla 1**, hay varios tipos de Ig´s; sin embargo, las instancias regulatorias restringen el tipo de Ac´s y por ello, la mayoría son del tipo IgG. Los de tipo IgE son los menos recomendables ya que pueden ser causantes de reacciones alérgicas,

particularmente en pacientes susceptibles. Otra limitante para los Ac´s es que sus características les generan una vida media corta.

Dentro de los aspectos regulatorios, tanto la FDA como la EMA recomiendan que se lleve a cabo una colección de muestras de los estudios de pacientes en fases clínicas. Esto permitiría que se pudieran utilizar las muestras para efectuar análisis retrospectivos, sobre todo si los estudios pertinentes no se realizaron de inmediato. Por lo cual, la planificación de almacén de las muestras y los consentimientos informados son importantes aspectos a considerar.

Otros aspectos que se consideran en el uso de los biofármacos son la naturaleza del biológico usado para tratamiento, la población a la cual se aplicará, la enfermedad a tratar, el esquema o régimen de tratamiento, así como, la o administración previa o concomitante de algún inmunosupresor o algún tipo de terapia basada en anticuerpos [26]. Así mismo, las agencias gubernamentales como la FDA y la EMA (cada una por su cuenta) solicitan pruebas adicionales a las ya descritas, tales como las que se enlistan en la **Tabla 2** y en la **Tabla 3** y que dependiendo de la agencia se vuelven importantes para los sitios en los que se desean utilizar dichos biofármacos.

De manera general, tanto guías europeas como norteamericanas de carácter regulatorio para los AcM tienen semejantes consideraciones para regular el uso y la seguridad de estas moléculas en humanos. En lo que respecta a estas consideraciones en México se han

Tabla 2. Guías sugeridas de carácter regulatorio para AcM considerados por la Administración de alimentos y medicamentos de Estados Unidos (FDA)

Caracterización, manufactura y pruebas de AcM para su uso humano [24, 27, 28]	
Sistema de expresión o fabricación	Líneas celulares, animales, bacterias, plantas, virus, etc.
Purificación	Especificidad, integridad estructural, potencia o unión al antígeno, pureza, contaminantes propios del sistema de expresión
Especificidad	Pruebas de unión, estudios en animales
Toxicidad	Pruebas de inmunogenicidad, neutralización, agregados
Estudios preclínicos	Pruebas de reactividad cruzada, vida media, la cual puede afectarse por la glicosilación, proteasas, antígenos circulantes o la respuesta inmune del paciente, dosis de administración, eliminación, solicitudes de licencia biológica, comercialización
Inmunogenicidad	Respuesta inmune secundaria, niveles de anticuerpos circulantes en el suero del paciente, reacciones de hipersensibilidad, alergia o anafilaxis, modificaciones químicas

Tabla 3. Guías sugeridas de carácter regulatorio para AcM considerados por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA)

Desarrollo, producción caracterización y especificaciones para AcM [29, 30]	
Desarrollo	Afinidad, reacciones cruzadas, isotipo, haplotipo
Método de obtención, fabricación o sistema de expresión	Tecnología recombinante, virus, bacterias, animales o células y eliminación de cualquier residuo o contaminante debido a el método de obtención
Caracterización fisicoquímica	Estructura primaria, composición de sus cadenas ligeras, variaciones de aminoácidos en el carboxilo o amino terminal, relación de puentes disulfuro, patrón de carbohidratos o sitios de glicosilación
Propiedades inmunológicas	Ensayos de unión al antígeno, unión a otros antígenos o proteínas, caracterización de la estructura y composición del epítopo (azúcares, proteínas)
Actividad biológica	Mecanismo de acción, efectos citotóxicos, unión o activación del complemento
Inmunogenicidad	Niveles de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos circulantes en suero de pacientes
Pureza y contaminantes	Peso molecular, perfiles electroforéticos, cromatográficos y de espectroscopia, multímeros, agregados, residuos de DNA, endotoxinas, contaminantes pro-inflamatorios
Potencia	Propiedades de unión al antígeno y de neutralización
Condiciones generales	Cantidad obtenida en un lote, pH, esterilidad, solubilidad, sistema de administración, patología a tratar, comercialización, modificaciones químicas

establecido algunas leyes para fármacos biotecnológicos y biocomparables (Ley General de Salud: artículo 222 (7 de mayo de 1997), Reglamento de Insumos para la Salud: artículos 87 y 167 (4 de febrero de 1998), Adición a la Ley General de Salud: artículo 222 Bis (11 de junio del 2009), Reforma a la Ley General de Salud (marco general para medicamentos biotecnológicos y biocomparables; 19 de octubre del 2011), Reglamento de moléculas nuevas y la Norma de Emergencia NOM-EM-001-SSA1-2012) (febrero del 2012)), las cuales se enfocan en aspectos como en su monografía, la caracterización del biofármaco, el proceso de fabricación y métodos para su análisis **[31].** Actualmente, y con las modificaciones realizadas a finales del año 2014, el proceso regulatorio de estas moléculas es regulado principalmente por la COFEPRIS, un órgano descentralizado de la Secretaría de Salud que administra en México el sistema de aprobación de medicamentos. Con estas leyes de aprobación de fármacos biotecnológicos o biosimilares, las autoridades consideran que México es un país atractivo para la inversión y uso de este tipo de medicamentos

biológicos, así mismo, que la población podría beneficiarse en diferentes patologías a través de ofrecer amplias alternativas de tratamientos terapéuticos avanzados **[32]**.

El ahora y el porvenir de los AcM

Actualmente, el uso de los AcM tiene diferentes fines, es así que se utilizan en procedimientos sofisticados como el diagnóstico en combinación con radioisótopos donde es factible visualizar el tamaño y localización de un tumor e incluso administrar fármacos a células cancerosas confinadas en un área específica. Estos fármacos son conocidos como anticuerpos-fármaco conjugados. Adicionalmente, las modificaciones químicas como la adición del polietilenglicol en la porción Fc de las Ig´s permiten reducir la inmunogenicidad de los AcM y evitar su rápida eliminación, así mismo, evitan el cruce de la placenta, ofreciendo una alternativa para pacientes embarazadas. En los últimos años, nuevas estrategias de funcionamiento de los AcM están siendo explotadas como lo son, la modulación o interacción con otras células del sistema inmune (sitio de chequeo inmunológico), algunas modificaciones postraduccionales que permiten alterar la especificidad de los AcM, sus funciones efectoras o su vida media **[33].** Existen desde hace algunos años Ac´s con actividad enzimática (denominados abzymes del inglés "Antibodies-Enymes") los cuales se distinguen porque su mecanismo de acción es una interacción de tipo enzima-sustrato, en donde el anticuerpo con función de enzima cataliza un cambio químico del sustrato con el cual interactúa. A diferencia de los AcM convencionales donde el anticuerpo reconoce o interactúa con su blanco molecular o antígeno sin modificar su estructura **[34]**.

En esta revisión nos hemos propuesto llevar a cabo una visualización actual, así como futura, de la aplicación de los AcM. Es claro que este tipo de medicina ya se convierte en una terapéutica personalizada, que busca el bloquear o inhibir a un blanco molecular específico. En este sentido, la revisión plantea que la medicina personalizada pudiera ser basada en una especie de "escaneos celulares" desde el nacimiento y en diferentes etapas del desarrollo humano, basado en la comparación de la homeostasis, susceptibilidad o variabilidad genética y proteómica celular, apoyado en técnicas como el análisis de los polimorfismos de un nucleótido (SNPs) y técnicas de proteómica.

Así mismo, se abre la posibilidad de llevar a cabo la extracción de células madre de los pacientes para generar un banco de células y que posteriormente, estas se usen para producir posibles transfecciones con genes de anticuerpos y que luego, cuando se presentase alguna enfermedad, ellas fueran inocularlas al individuo. Una vez que las células se encontraran en los pacientes, podrían volverse sistemas de producción de Ac´s en contra de células mutadas o, bien, contra proteínas citosólicas, de membrana o secretadas.

Conclusión

Situando el papel de México en el tema de producción y análisis de AcM, el presente artículo cuestiona que las leyes para el uso de los anticuerpos monoclonales o de otros biofármacos en humanos tendrían que tener consideraciones más estrictas, empezando por el simple hecho de que los estudios de fases clínicas son realizados en poblaciones con diferencias o predisposiciones génicas importantes, así como, en personas fenotípica e incluso geográficamente diferentes, sin perder de vista las bases de fabricación, inmunogenicidad, actividad, eficacia clínica, entre otras, las cuales forman parte de los aspectos regulatorios europeos y norteamericanos.

Conflicto de intereses

Todos los autores han leído y aprobado el manuscrito final. Además se declara que no hay conflicto de intereses.

Agradecimientos

MSM agradece la beca de estancia posdoctoral otorgada por la Fundación para la Salud y la Educación Dr. Salvador Zubirán (FunSaEd), con el número de registro P-318, del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". JA recibe financiamiento por parte de la DGAPA, UNAM, México (Proyectos PE21115 e IN224316).

Literatura Citada

1. *Arriola Peñalosa, M.A., NORMA Oficial Mexicana. NOM-257-SSA1-2014, En materia de medicamentos biotecnológicos. Segunda Sección. DIARIO OFICIAL, 2014.*

2. *Walsh, G., Biopharmaceutical benchmarks 2010. Nat Biotechnol, 2010.* ***28****(9): p. 917-24.*

3. *Watson, J.D., et. al., Biología Molecular del Gen. Editorial Médica Panamericana, 2005.* ***5a Edición****.*

4. *Elgundi, Z., et al., The state-of-play and future of antibody therapeutics. Adv Drug Deliv Rev, 2016.*

5. *Paul, W.E., Fundamental Immunology. LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, a WOLTERS KLUWER business, 2013.* ***7th Edition.***

6. *Pathak, Y.a.B., S., Antibody-Mediated Drug Delivery Systemes. Jhon Wiley & Sons INC., Publication., 2012.*

7. *Schroeder, H.W., Jr. and L. Cavacini, Structure and function of immunoglobulins. J Allergy Clin Immunol, 2010.* ***125****(2 Suppl 2): p. S41-52.*

8. *Yang, Y., et al., Distinct mechanisms define murine B cell lineage immunoglobulin heavy chain (IgH) repertoires. Elife, 2015.* ***4****: p. e09083.*

9. *Abbas, A.K., et al., Inmunología Celular y Molecular. McGraw-Hill Interamericana, 2002.* ***Cuarta Edición****.*

10. *Kennett, R.H., et al., Hybrid plasmacytoma production: fusions with adult spleen cells, monoclonal spleen fragments, neonatal spleen cells and human spleen cells. Curr Top Microbiol Immunol, 1978.* ***81****: p. 77-91.*

11. *Kohler, G. and C. Milstein, Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature, 1975.* ***256****(5517): p. 495-7.*

12. Brekke, O.H. and I. Sandlie, Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century. Nat Rev Drug Discov, 2003. **2**(1): p. 52-62.

13. Morrow, T., Defining the difference: what makes bologics unique. Biotechnology Healthcare 2004. **1**(4): p. 24-29.

14. Bazan, J., I. Calkosinski, and A. Gamian, Phage display--a powerful technique for immunotherapy: 1. Introduction and potential of therapeutic applications. Hum Vaccin Immunother, 2012. **8**(12): p. 1817-28.

15. Chames, P., et al., Therapeutic antibodies: successes, limitations and hopes for the future. Br J Pharmacol, 2009. **157**(2): p. 220-33.

16. De Vooght, K.M., M. Oostendorp, and W.W. van Solinge, New mAb therapies in multiple myeloma: interference with blood transfusion compatibility testing. Curr Opin Hematol, 2016.

17. Gecse, K.B. and P.L. Lakatos, Biosimilar Monoclonal Antibodies for Inflammatory Bowel Disease: Current Comfort and Future Prospects. Drugs, 2016.

18. Abdolmohammadi-Vahid, S., et al., Novel immunotherapeutic approaches for treatment of infertility. Biomed Pharmacother, 2016.

19. Wu, C., et al., In vitro model of production of antibodies; a new approach to reveal the presence of key bacteria in polymicrobial environments. BMC Microbiol, 2016. **16**: p. 209.

20. Iwamoto, R., et al., Characterization of a Novel Anti-Human HB-EGF Monoclonal Antibody Applicable for Paraffin-Embedded Tissues and Diagnosis of HB-EGF-Related Cancers. Monoclon Antib Immunodiagn Immunother, 2016. **35**(2): p. 73-82.

21. Sosa-Jurado, F., et al., Prevalence of Serologic Hepatitis B Markers in Blood Donors From Puebla, Mexico: The Association of Relatively High Levels of Anti-Core Antibodies With the Detection of Surface Antigen and Genomic DNA. Hepat Mon, 2016. **16**(6): p. e36942.

22. Pineda, C., et al., Assessing the Immunogenicity of Biopharmaceuticals. BioDrugs, 2016. **30**(3): p. 195-206.

23. Schellekens, H., Immunogenicity of therapeutic proteins: clinical implications and future prospects. Clin Ther, 2002. **24**(11): p. 1720-40; discussion 1719.

24. Administration., U.S.D.o.H.a.H.S.F.a.D., Guidance for Industry Monoclonal Antibodies Used as Reagents in Drug Manufacturing. http://www.fda.gov/cber/guidelines.htm., 1999.

25. Gebleux, R. and G. Casi, Antibody-drug conjugates: Current status and future perspectives. Pharmacol Ther, 2016.

26. Shankar, G., et al., Scientific and regulatory considerations on the immunogenicity of biologics. Trends Biotechnol, 2006. **24**(6): p. 274-80.

27. (ICH), I.C.o.H., Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals (Addendum to the ICH S6 Guideline) 2008.

28. FDA., Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use. U.S. Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research., 1997.

29. Agency, E.M., Guideline on development, production, characterisation and specifications for monoclonal antibodies and related products. . EMEA., 2008.

30. CHMP, C.f.M.P.f.H.U., Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use. EMEA., 2012.

31. *Espinosa Morales R., e.a., Medicamentos biocomparables en México: la postura del Colegio Mexicano de Reumatología, 2012. Reumatologia Clínica, 2013.* ***9(2)****: p. 113-116.*

32. *López Silva, C., México retoma un liderazgo regulatorio sobre medicamentos biotecnológicos y biocomparables. Gaceta Médica de México, 2012.* ***148****: p. 83-90.*

33. *Rodgers, K.R. and R.C. Chou, Therapeutic monoclonal antibodies and derivatives: Historical perspectives and future directions. Biotechnol Adv, 2016.* ***34****(6): p. 1149-58.*

34. *Suzuki, H., Recent advances in abzyme studies. J Biochem, 1994.* ***115****(4): p. 623-8.*

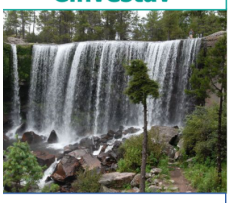
Universidad Juárez
del Estado de Durango

SMB

CONACYT

Casa abierta al tiempo

Cinvestav



Red Estructura Función y Evolución de Proteínas

Ciencias Bioquímicas

6° CONGRESO DE LA RAMA DE FISICOQUÍMICA, ESTRUCTURA Y DISEÑO DE PROTEÍNAS

6-10 Noviembre 2017
DURANGO, MÉXICO
Auditorio Universitario, UJED

PONENTES

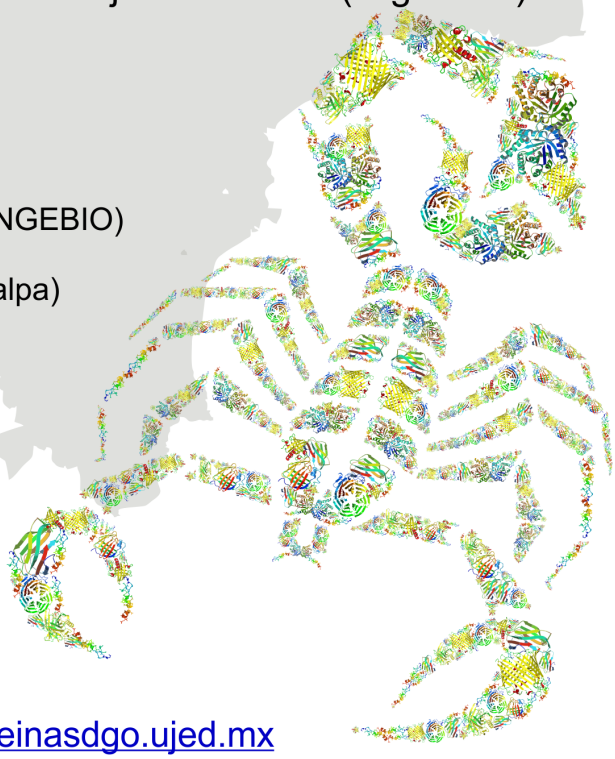
Doug Barrick (EUA)
Marcelo Comini (Uruguay)
BryanDyer (EUA)
Georgina Garza Ramos (México)
Braulio Gutiérrez Medina (México)
Wilhelm Hansberg Torres (México)
Birte Hocker (Alemania)
Andrzej Kloczkowski (EUA)
Susan Marqusee (EUA)
Edgar Morales Ríos (México)
Rosario A. Muñoz Clares (México)
Glaucius Oliva (Brasil)
Gloria Saab (México)
Daniel A. Silva Manzano (EUA)
Joseph W. Thornton (EUA)
Alejandro J. Vila (Argentina)

COMITÉ ORGANIZADOR

Claudia Avitia Domínguez (UJED)
Luis Brieba de Castro (CINVESTAV-LANGEBIO)
Alejandro Fernández Velasco (UNAM)
Mariana Pelmbert Torres (UAM-Cuajimalpa)
Erick Sierra Campos (UJED)
Alfredo Téllez Valencia (UJED)

COMITÉ LOCAL

Mayra Cisneros Quintero
Susuky Mar Aldana
Martha Quintanar Escorza
Estela Ruíz Baca
Iván Salazar
Mónica Valdez Solana



www.congresoproteinasdgo.ujed.mx

MICROBIOLOGÍA

(Clínica, Veterinaria, Agronómica)

"Si no te equivocas de vez en cuando, significa que no aprovechas todas tus oportunidades"
Woody Allen (1935-) actor y director estadounidense

Productos de la colmena: el propóleo como antimicrobiano ante cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*

[1]Astorga-Jimenez, R., [1]Ruiz-González[1] D.J., [1]Téllez-López, M.A., [1]Alanis-Bañuelos R.E., [1]Castro-Barraza, F., [1*] García-Luján C

[1] División de Estudios de Posgrado e Investigación. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango.

*Autor por correspondencia: Concepción García Luján. Av. Artículo 123 s/n, Fracc. Filadelfia. C.P. 35010, Gómez Palacio Dgo. México. Tel: (871) 7 15 88 10. FAX: (871) 7 15 29 64. conygarcialujan@hotmail.com

Resumen

El tratamiento con antibióticos es una de las terapias más importantes utilizadas para luchar contra las enfermedades infecciosas y ha mejorado enormemente los aspectos sanitarios de la vida humana desde su introducción, sin embargo, debido al su uso indiscriminado, se ha generado una resistencia de los microorganismos patógenos a dichos agentes bactericidas. Esta problemática ha generado la necesidad de búsqueda de nuevas propuestas de productos bioactivos, por lo anterior el objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos hexánico, clorofórmico y etanólico del propóleo de la Comarca Lagunera ante cepas de *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Se elaboraron los extractos por maceración con solventes orgánicos y se utilizó la técnica de microdiluciones en microplaca de 96 pozos para el bioensayo y la determinación de la concentración mínima inhibitoria. Como resultado se obtuvo que todos los extractos tuvieron actividad antibacteriana especialmente los extractos clorofórmico y etanólico ante las cepas de *Staphylococcus aureus*. Se propone la realización de estudios biodirigidos para lograr la validación de estos productos en el área de la terapéutica farmacéutica.

Palabras clave: sustancias bioactivas, resistencia bacteriana, productos de la colmena.

Abstract

Antibiotic treatment is one of the most important therapies used to combat infectious diseases and has greatly improved the health aspects of human life since its introduction, however due to the indiscriminate use, has generated a resistance of pathogens microorganisms. This problem has generated the need to search for new proposals of bioactive products, above the goal of this work was to determine the antibacterial activity i*n vitro* of hexane, ethanolic and chloroform extracts of propolis from Laguna Region to *P. aeruginosa* and *S. aureus* strains. Extracts were prepared by maceration with organic solvents and technique of 96-well microplate microdilution for bioassay and determining the minimum inhibitory concentration was implemented. As a result it was found that all

extracts display antibacterial activity, especially chloroform and ethanol extracts against strains of *Staphylococcus aureus*. Biodirigids studies to achieve the validation of these products in the area of pharmaceutical therapy is proposed.

Keywords: Bioactive substances, bacterial resistance, hive products.

Introducción

La resistencia a los antibióticos es un problema grave para todos los pacientes que se encuentran en los hospitales, ya que las infecciones causadas por bacterias resistentes están asociadas con la elevación de las tasas de mortalidad, morbilidad y estancias hospitalarias prolongadas. Frecuentemente las bacterias se vuelven más resistentes ya que los medicamentos se utilizan por largos períodos de tiempo y de forma incorrecta (Cabrera et. al., 2011; Benavides-Plascencia et. al., 2005; Picazo et. al., 2002).

Las estadísticas recientes muestran que *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) se encuentra entre los cinco principales agentes infecciosos en los hospitales (Lyczak et.al., 2002), especialmente en los departamentos de cuidados intensivos, es responsable de casi el 10% de las infecciones adquiridas en hospitales, tales como; infecciones del tracto respiratorio, urinario, oídos, piel y tejidos blandos. *P. aeruginosa* es una bacteria Gram-negativa no fermentativa, este patógeno oportunista causa infecciones graves en pacientes inmunosuprimidos, especialmente en personas con Fibrosis Quística (FQ), ya que son más susceptibles a este patógeno (Griffin et.al., 2012; Bodey et.al., 1983).

De igual manera, este patógeno es conocido como el más frecuente colonizador de dispositivos médicos (por ejemplo, catéteres,) que causan la infección cruzada en los hospitales y clínicas (Shruthi et. al., 2012; Cai et.al.,2011; Lyczak et.al., 2002).

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva, comensal y patógena de gran importancia clínica, ya que es responsable de una amplia gama de infecciones que incluyen desde infecciones leves de piel y tejidos blandos hasta otras graves como la neumonía, la endocarditis y el choque tóxico (Escobar et.al., 2014). Desafortunadamente, este patógeno ha ido desarrollando resistencia a los antimicrobianos de un modo muy eficiente (Perrazi et.al. 2010).

En la actualidad para la medicina *S. aureus* es uno de los microorganismos que se aísla con mayor frecuencia en las infecciones hospitalarias y comunitarias, además es uno de los patógenos nosocomiales de mayor importancia, causante de una gran variedad de enfermedades en humanos y animales, como infecciones simples sin complicaciones tales como foliculitis, forunculitis, hasta infecciones severas como endocarditis, septicemias, meningitis, neumonías o bacteriemias (Cervantes et.al., 2014).

El propóleo, es una sustancia que se ha utilizado hace varios miles de años en todo el mundo, como un remedio natural (Ghisalbert et. al., 1979; Kasai et. al. 2011; Sorimachi et.al. 2011; Sulaiman et.al., 2012), es un compuesto resinoso fuertemente adhesivo, es producido por las abejas *Apis mellifera (A. mellifera)*, al cual se le han atribuido múltiples propiedades farmacológicas como, por ejemplo, actividades antibacteriana, antiviral, antifúngica, antiinflamatoria, anticancerosa, antioxidante, entre otras (Dota et. al., 2011; Silva et.al., 2011) y es considerado el responsable de la baja incidencia de bacterias y hongos dentro de la colmena.

La aparición de cepas bacterianas resistentes

a los antibióticos presenta importantes retos terapéuticos. Existen opciones terapéuticas de antimicrobianos para estas bacterias, sin embargo, debido a su uso generalizado y frecuente en la última década, aunado a la automedicación y uso indiscriminado en la ganadería ha propiciado el desarrollo de cepas altamente resistentes.

Es de esperarse que los diferentes extractos de propóleo tengan un efecto inhibitorio en las cepas bacterianas probadas, lo cual constituye una potencial fuente de compuestos bioactivos que pudieran aprovecharse como alternativas de control antibacteriano. Por todo lo antes mencionado el propósito de este trabajo fue la determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos hexánico, clorofórmico y etanólico del propóleo de la Comarca Lagunera ante cepas de *P. aeruginosa* y *S. aureus.*

Materiales y métodos

Recolección del material vegetal y elaboración de los extractos

El propóleo fue proporcionado por el Dr. José Luis Reyes Carrillo de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Unidad Laguna, fue colectado en el mes de noviembre del 2015 en colmenas situadas en parcelas ejidales del municipio de Torreón Coahuila, México. Se prepararon extractos mediante maceración con solventes, atendiendo a la afinidad química de los principios activos presentes en el propóleo, se utilizaron solventes o polar, de mediana polaridad y polar: hexano, cloroformo y etanol (Gil-Chávez, 2013). Se pesaron 30 g de propóleo, se molieron en mortero y se colocaron en frascos de vidrio de boca ancha color ámbar. Posteriormente, se adicionaron 100 ml de cada solvente, hexano, cloroformo y etanol, se dejaron en reposo por 72 h con agitación ocasional. Una vez transcurrido el tiempo, se filtraron a través de papel filtro Whatman No. 4. Una vez filtrado se llevaron al rotavapor (Buchi) para eliminar todo el solvente y obtener el extracto completamente seco.

Preparación de las diluciones para las pruebas de actividad antibacteriana

Las soluciones stock para la actividad antibacteriana se prepararon disolviendo aproximadamente 1 mg de las muestras a evaluar con dimetilsulfóxido (DMSO) hasta alcanzar una concentración de 20,000 mg/mL. Las soluciones de trabajo para la actividad antibacteriana se prepararon tomando una alícuota de las soluciones stock y diluyéndolas con medio Mueller-Hinton (MH).

Estandarización del inóculo bacteriano

Las cepas son de origen clínico y fueron obtenidas de la Clínica Infecto Diagno Mol (IDM) y del Hospital Centro Médico de la Mujer en Torreón Coahuila. Se tomaron de 2 a 5 colonias de la placa de Mueller Hinton de cada género bacteriano estudiado, se suspendieron en tubos con 3 ml de solución salina estéril, y se ajustó la turbidez al nivel 0.5 de la escala de Mac Farland (Mediante espectrofotómetro a una densidad óptica de 560 nm), lo cual es equivalente a 1.5 $X10^8$ UFC/mL.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La actividad antibacteriana de los extractos fué determinada por el método de microdilución. El bioensayo se realizó en microplacas estériles de 96 pocillos (12 mm x 8 mm). Se adicionaron 200 µL de caldo de medio de cultivo Mueller-Hinton a cada pocillo.

En la fila A en las columnas 1, 2 y 3 se añadieron

100 µL de la solución de trabajo del extracto etanólico de propóleo, en las columnas 4, 5, y 6 se añadieron 100 µL del extracto clorofórmico de propóleo; en las columnas 7, 8 y 9 se añadieron 100 µL del extracto hexánico de propóleo, se homogenizaron utilizando una pipeta multicanal, de la mezcla anterior se transfirieron 100 µL a la fila B para realizar una dilución 1:2, se continuaron las diluciones hasta la fila G y se desecharon los últimos 100 µL a un frasco con cloruro de benzalconio al 10 %. Posteriormente, 100 µL de la suspensión bacteriana (10^8) se adicionaron a los pozos hasta la fila G. Las concentraciones se evaluaron en el rango de 500 hasta 7.81 mg/mL.

En atención a los controles, en las columnas 1-3 de la fila H se agregaron 100µl de caldo MH con 100µl del inóculo bacteriano adicionado con 100µl de dimetilsulfóxido (DMSO), para tener un control positivo, mientras que en las columnas 4 a la 6 de la misma fila H solo se agregaron 100µl de caldo MH como control negativo para detección de contaminación.

En las columnas 7-9 de la fila H se agregaron 100µL de caldo MH con levofloxacino (500 mg), además de 100 µL del inóculo de *S. aureus*, mientras que en las columnas 10 y 12 de la fila H se agregaron 100µL de *P. aeruginosa* con 100 µL de ciprofloxacino (500 mg), estos constituyeron los controles negativos. Posteriormente, las microplacas se taparon y se incubaron a 35 ± 2°C por 24 h. Al término de la incubación, el crecimiento bacteriano se evaluó visualmente para determinar el crecimiento o inhibición de la bacteria (**Figura 1**).

Resultados y discusión

En este estudio se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos de propóleo ante cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* buscando la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de cada uno de los extractos evaluados mediante el método de microdilución en placa de 96 pozos. La **Tabla I** muestra las CMI de los extractos de propóleo, a este respecto, Probst (2011), reportó actividad antimicrobiana del extracto etanólico de propóleo en cepas de *Staphylococcus aureus* y *E. coli* con CMI de 1.86 y 20.12 mg/µL respectivamente, lo cual es coincidente con Al-Waili (2012), también reportó inhibición de cepas de *S. aureus*, *E. coli* y *Candida albicans* en cultivos individuales y en policultivos con extracto de propóleo de Arabia Saudita y de Egipto, todo lo anterior es coincidente con lo encontrado en éste estudio, se remarca en especial el hecho de poder aplicar estos resultados en el área terapéutica para el control de cepas bacterianas resistentes, mediante la implementación a futuro de estudios biodirigidos en la farmacéutica médica. También es evidente que el contenido y purificación de componentes químicos se hace necesario para el conocimiento pleno de los principios activos y su utilización

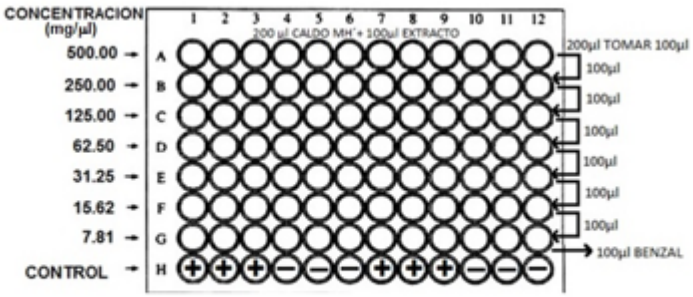


Figura 1. Microplaca de 96 pocillos que muestra la disposición del bioensayo

Tabla I. Concentraciones Mínimas Inhibitorias (mg/µL) de los extractos etanólico, clorofórmico y hexánico de propóleo ante cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

	Extractos de propóleo		
Cepa bacteriana	**Hexánico**	**Clorofórmico**	**Etanólico**
Pseudomonas aeruginosa	500	250	250
Staphylococcus aureus	550	120	60

en la terapéutica especialmente en el área de antimicrobianos.

Conclusiones

Los resultados en este estudio contribuyen de manera importante en la investigación de los efectos terapéuticos de los metabolitos secundarios de las plantas, además de demostrar la actividad antibacteriana del propóleo que con tecnología avanzada y estudios biodirigidos, se puede llegar a la formulación de nuevos antibióticos y así contribuir a la resolución de la problemática mundial de la resistencia bacteriana.

Referencias bibliográficas

1. Cabrera CE, Gómez RF, Zúñiga AE *et. al*. Epidemiology of nosocomial bacteria resistant to antimicrobials. Colombia Médica 2011.

2. Benavides-Plascencia L, Aldama-Ojeda AL, Vázquez HJ (2005) Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. Salud Pública de México 2005; 47: No. 3.

3. Picazo JJ, Betriu C, Rodríguez AI, Azahares E, Sánchez BA y Grupo VIRA. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 2002; 20:1 503-10.

4. Lyczak, JB, Cannon CL *et al*. Lung infections associated with cystic fibrosis. Clinical Microbiology Reviews 2002; 15: 2 194-222.

5. Griffin PE, Roddam LF *et al*. Expression of PPARgamma and paraoxonase 2 correlated with *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. PLoS One 2012; 7: 7 e42241.

6. Bodey GP, Bolivar R *et al*. (1983) "Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*." Rev Infect Dis 5(2): 279-313.

7. Shruthi E and Suma BS. Health from the Hive: Potential Uses of Propolis in General Health. International Journal of Clinical Medicine 2012; 3: 159-162.

8. Cai X, Wang R. *et al*. Structural and functional characterization of *Pseudomonas aeruginosa* CupB chaperones. PLoS One 2011; 6: 1 e16583.

9. Escobar, J. Aislamientos de *Staphylococcus aureus* sensibles a meticilina relacionados genéticamente con el clon USA300, ¿Origen de los aislamientos SARM de genotipo comunitario en Colombia? *Biomédica* 2014; 34: 1 124-36.

10. Perrazi, B. *Staphylococcus aureus*: nuevos y antiguos antimicrobianos. *Revista Argentina de Microbiología*, 2010; 42: 3 199-202.

11. Cervantes, E. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patology Clinical Medicine Laboratory* 2014; 61: 1 28-40.

12. Ghisalbert EL. Propolis: a review. Bee World 1979; 60: 59-80.

13. Kasai M, Fukumitsu H *et al.* Ethanol extract of chinese propolis facilitates functional recovery of locomotor activity after spinal cord injury. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine 2011.

14. Sorimachi K and Nakamoto T. Alternative medicine safety: *Agaricus blazei* and propolis. Combinatory Chemistry High Throughput Screen 2011¿ 14: 7 616-21.

15. Sulaiman GM, Sammarrae KWA *et al*. Chemical characterization of Iraqi propolis samples and assessing their antioxidant potentials. Food and Chemical Toxicology 2012; 49: 2415-2421.

16. Dota K F, Consolaro ME *et. al.* (2011) "Antifungal Activity of Brazilian Propolis Microparticles against Yeasts Isolated from Vulvovaginal Candidiasis." Evid Based Complement Alternat Med 2011: 201953.

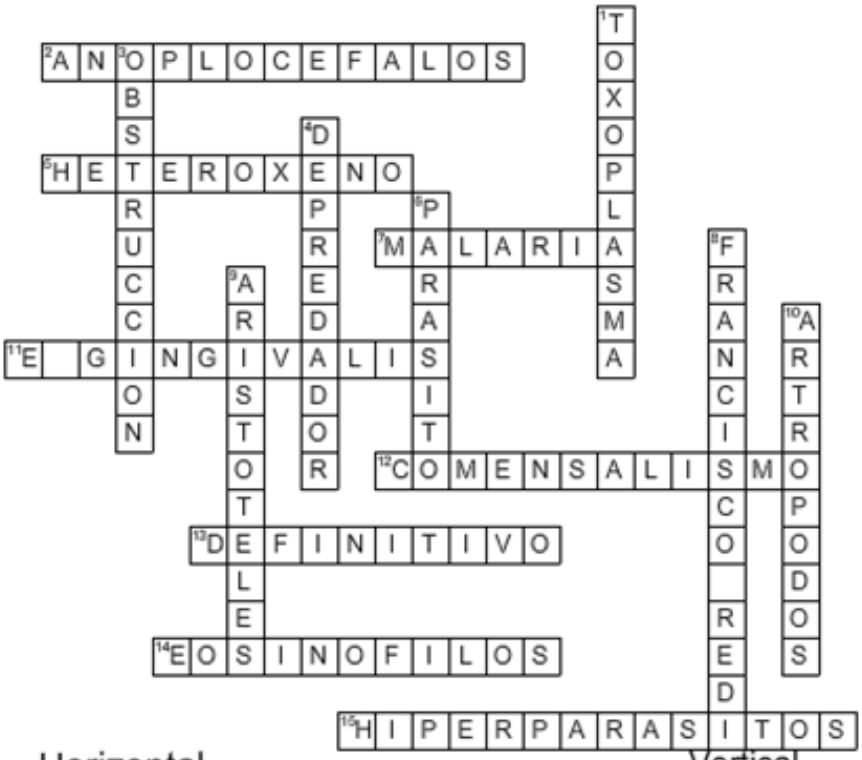
17. Silva V, Genta G *et. al*. Antioxidant activity of uruguayan propolis. In vitro and cellular assays. Journal of Agricultural Food Chemistry 2011; 59: 12 6430-7.

18. Gil-Chávez GJ, Villa JJA, Ayala-Zavala F, Heredia B *et. al.* Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 2013; 12: 5-23.

19. Probst IS, Sforcin JM, Rall VLM, Fernández AAH, Fernández JA. Antimicrobial activity of propolis and essential oils and synergism between these natural products. The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 2011; 17: 2 159-167.

20. Al-Waili N, Al-Ghamdi A, Javed AM and Al-Attal KS Synergistic Effects of Honey and Propolis Toward Drug Multi-Resistant *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* and *Candida albicans* isolates in Single and Polymicrobial Cultures. International Journal of Medical Science 2012; 9: 9 793-800.

Parasitismo



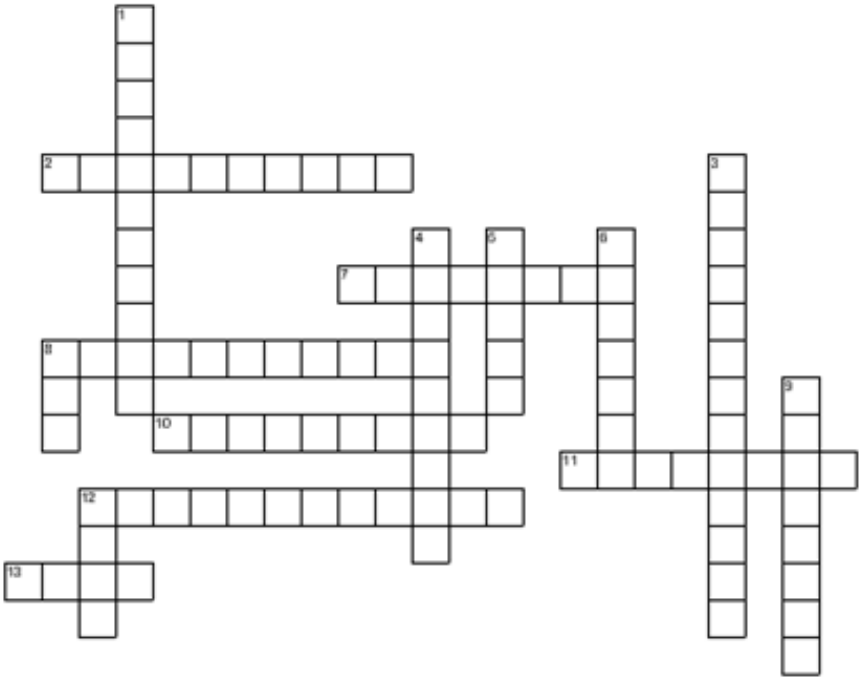
Horizontal

2. Parasito eucariota de importancia en veterinaria
5. Requiere de mas de una especie para cumplir su ciclo biologico
7. Segun la OMS se clasifica como enfermedad tropical persistente
11. Parasito comensal de la cavidad oral
12. Implica solo el hallazgo de alimentos. Ninguno sufre daÃ±os
13. Hospedero que alberga la forma adulta o la etapa de reproduccion sexuada del parasito
14. Mecanismos de defensa del hospedero
15. Parasitos que se desarrollan en otro parasito, por ejemplo los hongos de los generos Sphaerita y

Vertical

1. Se transmite a traves de heces de gato infectadas con quistes
3. Mecanismo de agresion parasitaria de tipo mecanico
4. Ataca a su victima y se alimenta de ella luego de inmovilizarla o matarla
6. Ser vivo que durante una parte o la totalidad de su vida se aloja y/o alimenta a expensas de otro ser vivo
8. Considerado el padre de la parasitologia, describio a Sarcoptes scabei
9. Describio y clasifico un grupo de gusanos (helmintos) intestinales en el aÃ±o de 384-322 a.c
10. Actuan como vectores activos de agentes infecciosos

Farmacologia



Horizontal

2. Substancia que da forma, color, sabor y consistencia al medicamento
7. Si produce o aumenta el efecto
8. Uno de los procesos en la interaccion de farmacos con el hombre y animales
10. Proceso por el que llega a circulacion sanguinea
11. Cantidad de farmaco requerida para un efecto
12. Se da por su peso molecular, pH, carga electrica, solubilidad y capacidad de union a proteinas
13. Cantidad minima para lograr el efecto

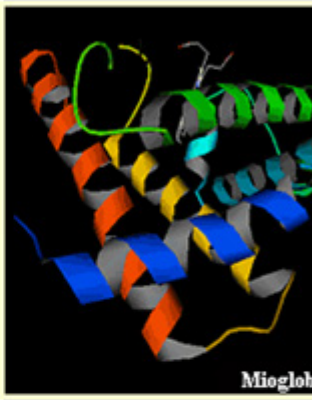
Vertical

1. Mezcla de principios activos y su excipiente
3. Estudia plantas medicinales y las drogas que derivan de ella
4. Estudia la dosificacion de farmacos
5. Tejido principal por el cual ocurre la excrecion
6. Principio activo
8. Tiempo medio de permanencia del farmaco en el organismo. siglas
9. Capacidad de union del farmaco al receptor
12. Cantidad minima para lograr la muerte de la mitad de la poblacion

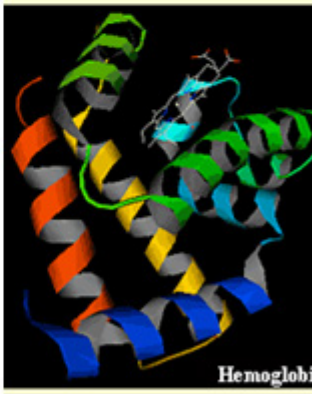
Problema bioquímico

Estructura de Proteínas

Erick Sierra Campos y Mónica Andrea Valdez Solana
Facultad de Ciencias Químicas GP, Universidad Juárez del Estado de Durango. Email: ericksier@gmail.com; valdezandyval@gmail.com



La mioglobina y las subunidades de la hemoglobina son aproximadamente del mismo tamaño, y la estructura de una subunidad de la hemoglobina es muy similar a la estructura de la mioglobina. Dados estos hechos, explique por qué la hemoglobina tiene una relación de aminoácidos no polares/polares más elevada que la mioglobina.



Envía tu respuesta a las direcciones de correo electrónico que aparecen en la parte superior y la respuesta correcta aparecerá en el siguiente volumen de la revista. No olvides anotar tus datos completos y anexar los cálculos completos de tu respuesta.

La Universidad Juárez del Estado de Durango

Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio

a través de la

División de Estudios de Posgrado e Investigación

Convoca

A todas las personas interesadas de México, egresadas de las carreras de QFB, IQA, Medicina, Biología, Ingeniería Química, entre otras áreas afines; que tengan conocimientos en el área de química, biología y estadística, destreza en el manejo de instrumental de laboratorio, habilidades orales y escritas, así como conocimientos del idioma inglés y habilidades en el uso de herramientas informáticas, que además tengan capacidad emprendedora así como, interés en la investigación, ser creativos, disciplinados y con visión holística, para participar en el proceso de admisión a:

La Maestría en Ciencias Químicas

Padrón Nacional de Posgrados de Calidad

CONACYT

Líneas de Investigación:

- ✓ Desarrollo e innovación de los alimentos
- ✓ Bases Bioquímicas y moleculares de la salud Ambiental

Opciones terminales:

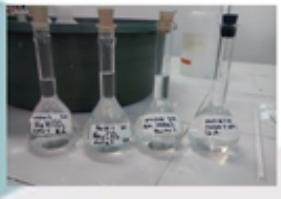
- ✓ Ciencia y Tecnología de los alimentos
- ✓ Ciencias Bioquímicas

Fechas importantes.

- Fecha límite para entrega de solicitudes: 25 de abril
- Curso propedéutico el 24 de abril al 30 de junio
- Evaluación Psicométrica:
  - ✓ entrevista: 27-31 de marzo
  - ✓ Examen: 4 de abril
- Examen de conocimientos: 5 de junio
- EXANI III el 10 de junio
- Presentación proyecto o trabajo de tesis: 21 de junio
- Entrevista con Núcleo académico básico: 22 de junio
- Publicación de resultados el 7 de julio
- Inscripciones nuevo ingreso: 24-28 de julio
- Plática de inducción: 04 de agosto 2017
- **Inicio de clases el 7 de agosto 2017**

Requisitos para ficha.

- Copia de acta de nacimiento con formato nuevo
- Copia del certificado de licenciatura o constancia de estudios con calificaciones y promedio
- 2 fotografías tamaño credencial
- CURP
- RFC
- Credencial de elector IFE o INE
- Recibo de pago de ficha (incluye: pago de derecho a EXANI III y curso propedéutico)

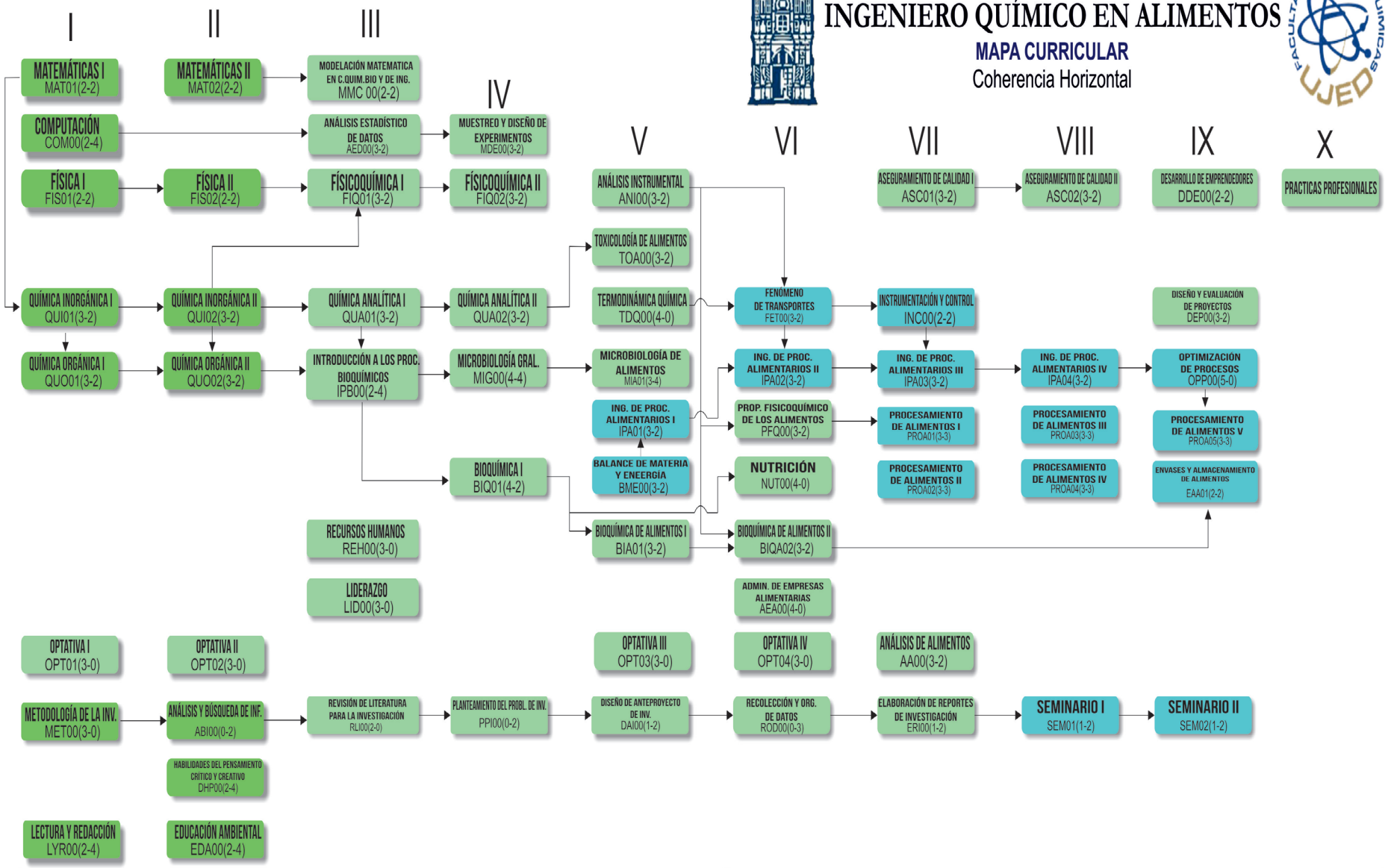


Mayores informes:
Dra. Ruth Elizabeth Alanis Bañuelos
posgradofcqgp@ujed.mx
Tel: (871) 7158810 ext. 118
Pág. Web: www.fcqgp.ujed.mx

INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS

MAPA CURRICULAR

Coherencia Horizontal



FORMACIÓN INTEGRAL

ARTE CULTURAL Y DEPORTE	FORMACIÓN INTELECTUAL	ACTIVIDADES DE VINCULACIÓN	8 CRÉDITOS	SERVICIO SOCIAL EXPERIENCIA RECEPCIONAL	10 CRÉDITOS 4 CRÉDITOS	PRACTICAS PROFESIONALES	12 CRÉDITOS

I			II			III			IV			V			VI			VII			VIII			IX			X		
T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C
20	14	34	17	18	35	24	12	36	20	14	34	23	16	39	20	13	33	18	16	34	13	12	25	16	11	27	0	600	12

REMDIS (fcqgp.ujed.mx)
ISSN:
Publicación Semestral de Investigación Cientifica en Ciencias Alimentarias y de Salud.
Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio
Universidad Juárez del Estado de Durango
www.ujed.mx
Artículo 123 S/N Col. Filadelfia, Gómez Palacio, Durango, México CP 35010
Telefono (871) 715 8810 FAX (871) 715 2964
e-mail: editorremdis@gmail.com