



REVISTA MEXICANA DE INDUSTRIA Y SALUD

Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, UJED

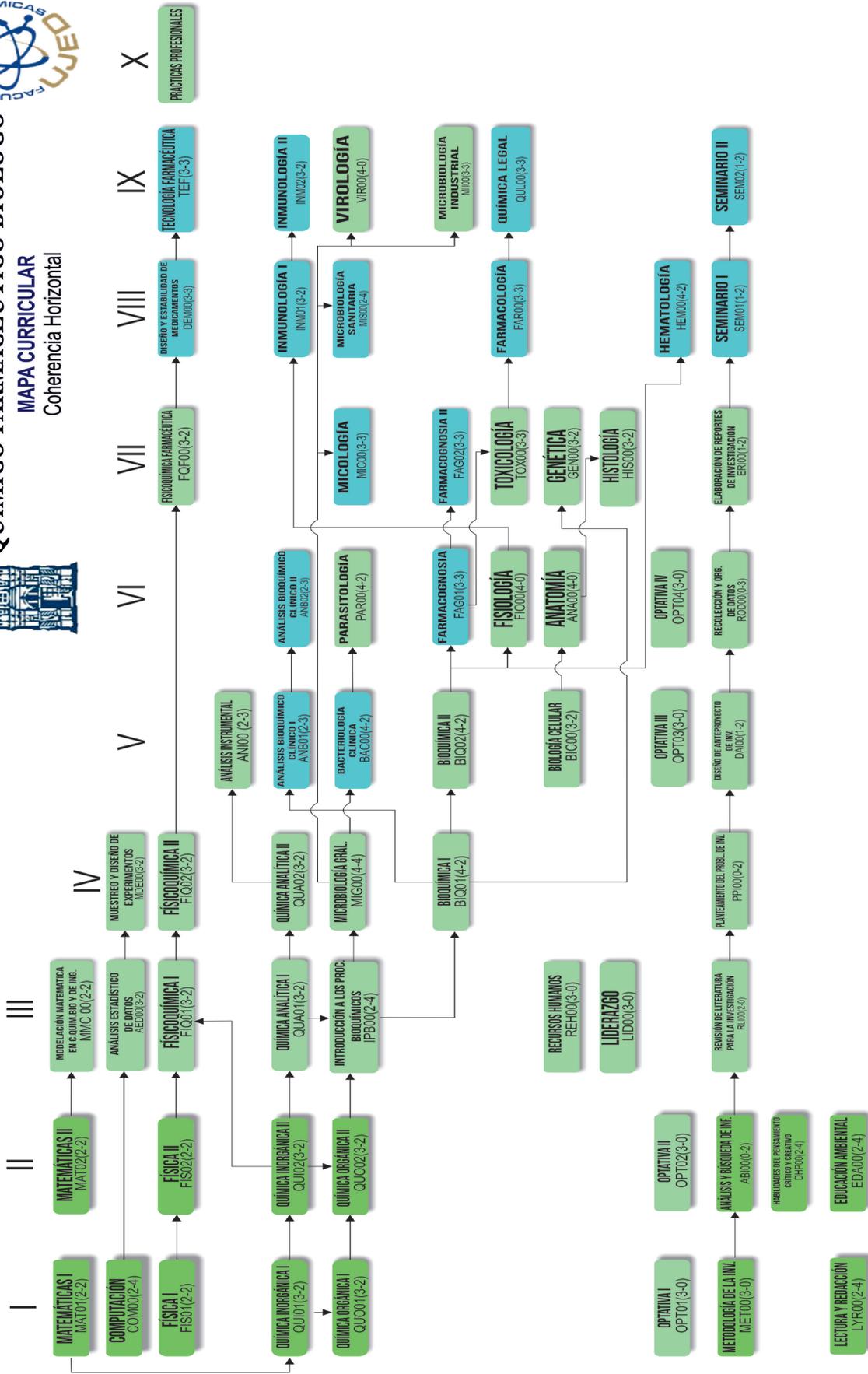


Número 9
Volumen 2
Mayo 2019
ISSN: 2594-1445



QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

MAPA CURRICULAR
Coherencia Horizontal



FORMACIÓN INTEGRAL

ARTE CULTURAL Y DEPORTE			FORMACIÓN INTELLECTUAL			ACTIVIDADES DE VINCULACIÓN			SERVICIO SOCIAL EXPERIENCIA RECEPTIVAL			PRÁCTICAS PROFESIONALES											
T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C									
17	19	36	24	12	36	20	14	34	14	17	31	19	17	36	16	16	32	17	13	30	0	600	12
												8 CREDITOS			10 CREDITOS			4 CREDITOS			12 CREDITOS		

REVISTA MEXICANA DE INDUSTRIA Y SALUD

CINTILLO LEGAL

Revista Mexicana de Industria y Salud, año 6 No. 9 (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) 715 8810 ext. 118, www.fcqgp.ujed.mx/remdis, editorremdis@gmail.com, www.simposiumfcqujed@gmail.com.

Editor responsable: M. C. Mónica Andrea Valdez Solana. Reserva de derechos al uso exclusivo (en trámite), ISSN 2594-1445, 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 31 de mayo de 2019.

Consejo Editorial

Juan Pablo Pardo Vázquez
Bioquímica; Facultad de Medicina, UNAM

Oscar Flores Herrera
Bioquímica; Facultad de Medicina, UNAM

Erick Sierra Campos
Biotecnología médica; Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, UJED

Alfredo Téllez Valencia
Medicina molecular; Facultad de Medicina, Durango, UJED

Claudia Avitia Domínguez
Medicina molecular; Facultad de Medicina, Durango, UJED

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

Diseño
Luis Antonio Montoya Jáquez



DIRECTORIO INSTITUCIONAL

M.A. Rubén Solís Ríos
Rector

M.C. Julio Gerardo Lozoya Vélez
Secretario General

Dr. Jesús Espinosa Flores
Contralor General

Dr. José Othón Huerta Herrera
Subsecretario General Académico

Dr. Juan José Martínez García
Director de la Facultad de Ciencias Químicas GP

Lic. Daisy Virginia Rivas Govea
Secretaria Administrativa

M.C. Verónica Yazmín Mejía García
Secretaria Académica

Dra. Concepción García Luján
**Jefa de la División de Estudios de Posgrado e
Investigación**

Dr. José de Jesús Alba Romero
Coordinador de Investigación

Dr. José Rafael Minjares Fuentes
Coordinador Académico

CONTENIDO

EDITORIAL.....	vi
Dr. Juan José Martínez García	
BIOQUÍMICA	1
- Implementación de probióticos en la acuicultura de peces con importancia comercial: una revisión. Jesús Mateo Amillano Cisneros, Luciana Raggi Hoyos y Carlos Antonio Martínez Palacios.	
ALIMENTOS	13
- Determinación fisicoquímica a base de un liofilizado del fruto de <i>Morus nigra</i> recolectado de árboles de la Comarca Lagunera. Jesús Iván García Castañeda, Joaquín Avalos Soto, Miguel Aguilera Ortiz, Aurora Martínez Romero, Rodolfo Gerardo Chew Madinaveitia, José de Jesús Alba Romero, Sandra-Isabel Hernández González.	
QUÍMICA FARMACÉUTICA Y CLÍNICA	22
- Azoteas verdes: Alternativa de solución al cambio climático y calentamiento global. Iris Aurora Nava Jiménez, Hugo Sánchez Hernández.	
- Kafirinas: clasificación, métodos de extracción y su potencial aplicación como cosmeceútico. Castro-Jácome, T.P., Alcántara-Quintana, L.E., Tovar-Pérez, E.G.	
- Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos: Una revisión actualizada de un problema antiguo. Efraín Ríos-Sánchez, Alberto González-Zamora, Edgar Héctor Olivas-Calderón, Gerardo Alfonso Anguiano-Vega, Rebeca Pérez-Morales.	
- La gobernadora (<i>Larrea tridentata</i>), el ácido norhidroguayarático, usos y riesgos de uso. Sánchez-Macias P. M., Rodríguez-Zambrano E. L., María de los Ángeles Sáenz-Esqueda M., Ruth Elizabeth Alanis-Bañuelos, Fernando Castro-Barraza., José de Jesús Alba-Romero., Concepción García-Luján.	
CIENCIAS BIOMÉDICAS	57
- Células satélite y su contribución a la regeneración muscular en salud y enfermedad. Rodolfo Daniel Avila Aviles, Lawrence Christopher Lopez Mendez, José Manuel Hernández Hernández.	
- Evaluación del desempeño entre plasma rico en plaquetas puro (PRPP) y fibrina rica en plaquetas-leucocitos (PRP-L) en la regeneración en úlceras vasculares. José de Jesús Alba-Romero, Pablo Ruiz-Flores, Esperanza Yazmín Calleros-Rincón, Damari Lizeth Alba-Romero, Graciela Castro-Escarpulli, Sandra Isabel Hernandez-González, Aurora Martínez-Romero	
- Riesgo sanitario por la presencia de arsénico en agua de bebida en el norte de México. Aurora Martínez Romero, José Luis Ortega Sánchez, Maribel Cervantes Flores, Sandra Isabel Hernández González, José de Jesús Alba Romero.	
MICROBIOLOGÍA	85
- Aislamiento e identificación de estafilococos multirresistentes presentes en canarios (<i>Serinus canaria</i>). Erick Sierra Campos, Claudia Avitia Domínguez, Alfredo Téllez Valencia, Marian Ramos Rivera, Melissa Fierro Loera, Norma Lizeth Soriano Oviedo, Erica Karime Ventura García y Mónica Andrea Valdez Solana.	
- Actividad antifúngica <i>In vitro</i> de los extractos vegetales de sangre de grado (<i>Jatropha dioica</i>) y olivo (<i>Olea europaea</i>) ante especies de <i>Candida spp</i> hospitalarias. Dennise Guadalupe Jaramillo-Nevárez, Yareli Jaramillo-Nevárez, Miguel A. Téllez-López, Ruth E. Alanis-Bañuelos, Fernando Castro-Barraza, Concepción García-Luján.	
PROBLEMA	101
- de balances de energía en reactores químicos de flujo ideal. Erick Sierra Campos y Mónica Andrea Valdez Solana	
CRUCIGRAMA	102
- Matemáticas. Erick Sierra Campos y Mónica Andrea Valdez Solana	
RESPUESTA PROBLEMA ANTERIOR	103
- Fisicoquímica	
RESPUESTA CRUCIGRAMA ANTERIOR	104
- Análisis instrumental.	

EDITORIAL

Nuestra Facultad de Ciencias Químicas, pertenece orgullosamente a la Universidad Juárez del Estado de Durango. Para hacer una remembranza de porque lleva el nombre de Juárez se puede comentar lo siguiente: cuenta la historia que los estudiantes de, en ese tiempo Instituto del Estado, solicitaron al Gobierno Estatal que cambiara su nombre por el de Instituto Juárez accediendo las autoridades a tal petición mediante un decreto el 5 de agosto de 1872.

Fue hasta el día 21 de marzo de 1957, que la 46 Legislatura del Estado de Durango aprobó el decreto 101, propuesto por el gobernador del Estado Francisco González de la Vega, mediante el cual se constituía lo que es nuestra *Alma Mater* la Universidad Juárez del Estado de Durango.

Juárez fue y ha sido un personaje importante en la historia de nuestro país. Su nacimiento que se celebra el 21 de marzo es una fiesta para nuestra institución y para todo México. Es en este momento en que aprovecho para comentar que es necesario celebrar otras fechas relacionadas a la vida y obra del Benemérito de las Américas.

Realizador de la Reforma, su extracción indígena se convirtió en un símbolo de la capacidad de su raza. Fue al propio tiempo una representación de lo que podía ser el mestizaje, esto es, la incorporación del indígena a la cultura moderna.

Abogado, Diputado Federal, Gobernador de Oaxaca, Ministro de la Suprema Corte, Presidente de la República, Juárez es la figura cumbre de la política mexicana. Liberal y republicano convencido reúne en torno suyo a los reformistas más señeros y, gracias a su inquebrantable constancia, decisión y valor salva la República. A él se debe el establecimiento de las Leyes de Reforma y la derrota de las fuerzas imperialistas invasoras.

Una de las fechas a considerar también de celebración se da a su regreso, después del exilio, en donde se unió a Ignacio de Comonfort y Juan Álvarez en la lucha triunfante en 1854 del Plan de Ayutla, una de cuyas primeras acciones fueron las Leyes de Reforma, expidiéndose el 23 de noviembre del año siguiente la Ley sobre administración de justicia orgánica de los tribunales de la nación, ésta suprimió los fueros eclesiásticos y militares.

Benito Juárez nos dejó varias frases que representan su manera de pensar y actuar. A continuación, les dejo una de ellas: “Mexicanos: sabéis ya la conducta que me propongo seguir; prestadme vuestra cooperación: la causa que sostenemos es justa y confiamos en que la Providencia Divina la seguirá protegiendo como hasta aquí.”

Benito Pablo Juárez García murió el 18 de julio de 1872 dejando como legado a los mexicanos la consolidación de la República Restaurada, el respeto a la Constitución, las Leyes de Reforma, la educación gratuita y laica, la instalación del telégrafo y la construcción de la línea férrea de Veracruz a la Ciudad de México, entre otros logros.

Quise plasmar un poco de la vida y obra de Benito Juárez en esta editorial de la Revista REMDIS con la idea de tener más acercamiento hacia nuestra identidad tanto nacional, como institucional, e identificar el compromiso que representa ser Juaristas. Nuestra labor como catedráticos y alumnos irá encaminada a enaltecer nuestros ideales y aportar a la sociedad la cooperación para tener una Facultad, una Universidad, un México y un Mundo Mejor.

Dr. Juan José Martínez García

Director Facultad de Ciencias Químicas-GP

Universidad Juárez del Estado de Durango



Universidad Juárez del Estado de Durango
Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio



MISION

Formar personas competentes en el área de Ciencias Químicas, con sentido humano, científico y social que propicien el bienestar regional, estatal y nacional.

VISION

Ser una Facultad adaptable a las circunstancias nacionales y globales ofreciendo programas educativos de calidad, con personal docente y administrativo competente a través de la actualización dinámica en un ambiente armónico.

BIOQUÍMICA

(Bioenergética, proteínas, metabolismo, productos bioactivos)



*"Una cabeza sin memoria es como una plaza sin guarición"
Napoleón Bonaparte (1769-1821): emperador de Francia.*

Implementación de probióticos en la acuicultura de peces con importancia comercial: una revisión.

¹Jesús Mateo Amillano Cisneros, ^{1*}Luciana Raggi Hoyos y ¹Carlos Antonio Martínez Palacios.

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, San Juanito Itzúcuaro, Morelia, Michoacán, México, CP 58330. LANMDA.

E-mail: luciana.raggih@gmail.com

Resumen

Los probióticos son microorganismos vivos que al consumirlos tienen una función en el organismo hospedero, principalmente en el tracto digestivo. Estos están representados principalmente por bacterias ácido-lácticas como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Roseobacter* y hongos como *Sacharomyces* y *Aspergillus*. Se ha determinado en diversos estudios que la adición de estos microorganismos como especies individuales o en cocteles de dos o más especies provocan múltiples efectos benéficos en hospederos de diversos taxones tales como el mejoramiento del sistema inmune, la producción de enzimas digestivas, el aprovechamiento de nutrientes, la modulación de la morfología intestinal y de la microbiota intestinal. Particularmente, la aplicación de probióticos en peces de cultivo es un tema de gran interés, ya que se ha determinado que su uso ha generado excelentes resultados en la mejora de la producción de peces debido a sus efectos en el crecimiento y la supervivencia, así como en la disminución de enfermedades, lo que implica una ganancia económica, y una menor inversión en el uso de medicamentos. El objetivo de esta revisión es examinar los métodos de uso, procesamiento y almacenamiento de probióticos, conocer cuáles son los organismos probióticos que más se han utilizado en acuicultura, cuáles son las dosis utilizadas y analizar el efecto de los probióticos en peces cultivados y consumidos en México.

Palabras claves: Probióticos, industria acuícola, microbiota.

Abstract

Probiotics are live microorganisms considered to have a beneficial function in the host organism's gut. These are mainly represented by lactic acid bacteria such as *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Roseobacter* and fungi such as *Sacharomyces* and *Aspergillus*. It has been determined in several studies that the addition of these microorganisms causes multiple effects in hosts of different taxa such as the improvement of the immune system, the production of digestive enzymes, better nutrients utilization, modulation of intestinal morphology and intestinal microbiota. Particularly, application of probiotics in fish culture is a subject of great interest, since it has been determined that its use has generated excellent results to improve food production due to its effects on growth and survival of fish. Also, reduction of diseases, which increases an economic gain in fish production, and lowers investment in the management of disease outbreaks affecting fish cultures. The objective of this review is to examine the probiotic use, processing and storage methods, analyze which probiotic organisms are most used in aquaculture, which are the doses that have been added to fish and the effect of probiotics on fish growth, consumed in Mexico.

Key words: Probiotics, aquaculture, microbiota.

Introducción

La acuicultura se define como el cultivo de organismos acuáticos (peces, moluscos, crustáceos y algas) tanto en zonas costeras como en el interior continental que implica intervenciones en el proceso de cría para aumentar la producción (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO, 2018). Uno de los objetivos más importantes de esta actividad, es el aumento significativo de la producción y la optimización de la rentabilidad (Mohammadian, et al. 2017). La acuicultura es el sector de producción de alimentos de mayor crecimiento en la actualidad y representa cerca del 50% de la producción pesquera mundial, siendo en 2016 el 47% (80.37 millones de toneladas). De la producción total mundial acuícola, el 67% (54.1 millones de toneladas) fueron derivadas del cultivo de peces (FAO, 2018).

Dentro de la diversidad de organismos que son usados para acuicultura, es evidente que los peces son el recurso más importante, ya que 3,200 millones de personas en todo el mundo dependen del pescado para al menos el 20% de su ingesta de proteína animal, consumiéndose aproximadamente 20 kg de pescado per capita por año (FAO, 2018). También, son de suma importancia los aceites extraídos de los peces, los cuales pueden contener hasta el 60% de ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), siendo estos ácidos grasos omega 3 los más importantes en la nutrición humana (FAO, 2010). De la acuicultura de peces, según el último registro (2016) publicado por la FAO en el año 2018, el continente con mayor producción fue Asia con 47.72 millones de toneladas. El segundo y tercer lugar de producción fueron América y África con una producción similar de 1.98 y 1.97 millones de toneladas, respectivamente. Mientras que en Asia y África la producción va en aumento, en América se ha mantenido estable. México se encuentra posicionado en el 4º lugar de producción acuícola en América (seguido de Chile, Brasil y Ecuador; FAO, 2018) con una cantidad de 377,000 toneladas para el año 2016 y un valor monetario de 13,765 millones de pesos (CONAPESCA, 2017). La producción acuícola en México está teniendo, al igual que la mayoría de los países en el mundo, una tendencia hacia el crecimiento debido al incremento de la demanda de alimentos nutracéuticos ricos en proteína animal y al crecimiento poblacional global.

Debido a esta demanda, la acuicultura en los últimos años se ha enfrentado a una variedad de retos, tales como el cultivo a altas densidades, con el fin de

incrementar la producción. Estas prácticas, además de causar daños al medio ambiente debido a efectos físicos y ecológicos, como cambios en la calidad del agua o en estructuras de hábitats acuáticos, conducen a condiciones de alto estrés en los animales acuáticos, lo que puede resultar en la propagación de enfermedades por infecciones bacterianas causando mortalidades masivas (Cabello, 2006; Ashley, 2007) y por tanto, causando una fuerte pérdida económica. Dado esto, la calidad del alimento y los métodos de alimentación deben considerarse para mejorar el rendimiento del crecimiento y la eficiencia alimenticia de los animales cultivados. Para solventar muchos de los problemas en esta área de la producción alimentaria, en las últimas dos décadas, la biotecnología se ha dado a la tarea de innovar en alimentos funcionales como es la aplicación de probióticos, la cual se ha realizado en múltiples áreas de la investigación y van desde la medicina humana y animales de compañía, así como su uso en las industrias avícola, porcina, bovina y acuícola.

El objetivo de esta revisión es analizar los múltiples efectos de los probióticos en la acuicultura de distintas especies de peces con importancia comercial alimenticia, para conocer en qué especies los probióticos se han utilizado, las características que deben cumplir para su uso, los métodos de procesamiento y almacenamiento, así como su viabilidad, sus dosis, tiempo de aplicación y efectos en la salud y crecimiento de los peces.

Definición de probiótico: en general y en acuicultura

La palabra probiótico se construye a partir de la palabra latina pro (para) y la palabra griega bios (vida) (Zivkovic, 1999). La FAO y la OMS (2006 y 2011) han definido a los probióticos como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, proporcionan beneficios para la salud del huésped”. En términos de acuicultura, una buena definición de probióticos es la proporcionada por Merrifield, *et al.* (2010) quienes lo definen como “una célula viva, muerta o componente de una célula microbiana que, cuando se administra a través del alimento o en el agua, beneficia al organismo hospedero al mejorar la resistencia a la enfermedad, el estado de salud, el rendimiento en el crecimiento, la utilización del alimento, la respuesta al estrés o vigor general, que se logra al menos en parte a través de la mejora del balance microbiano del huésped o el balance microbiano del medio ambiente”.

Probióticos en la industria alimentaria

La biotecnología alimentaria es la aplicación de técnicas biotecnológicas modernas para la fabricación y el procesamiento de alimentos, por ejemplo, a través de la fermentación y los aditivos alimentarios (Lee, 2015). Dentro de esta área se encuentran los alimentos funcionales, los cuales son alimentos naturales o procesados que contienen compuestos biológicamente activos y conocidos que, cuando se encuentran en cantidades adecuadas y proporcionan un beneficio para la salud (Lee, 2015). Los alimentos funcionales, requieren dosis adecuadas de probióticos que no deberán perderse antes de su consumo, para así tener un efecto benéfico en el organismo receptor. Existen varios factores durante el procesamiento y el almacenamiento que afectan la viabilidad de los organismos probióticos (Tripathi y Giri, 2014; Fig. 1).

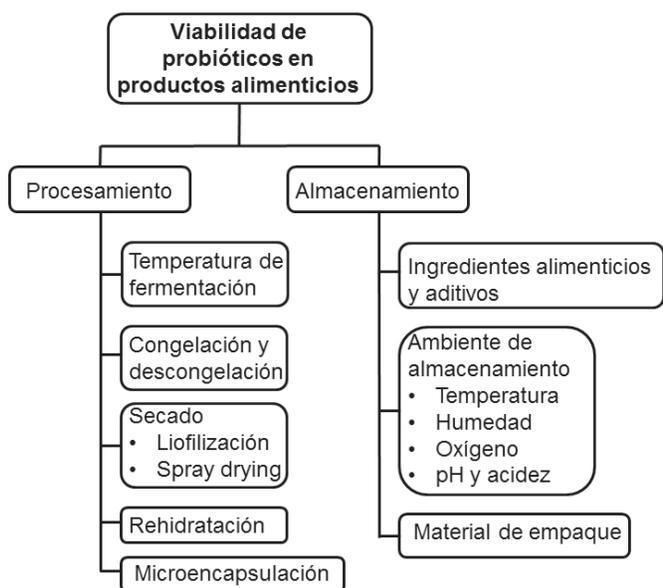


Figura 1. Factores importantes que afectan la viabilidad de probióticos.

Factores que afectan la sobrevivencia de probióticos durante el procesamiento

• Temperatura de fermentación

La temperatura de fermentación es uno de los factores importantes que afectan la viabilidad de los microorganismos probióticos. En la fabricación de alimentos, durante los procesos de calentamiento/cocción/pasteurización, el tiempo de exposición debe ser lo más corto posible para poder conservar vivos a los microorganismos probióticos (Tripathi

y Giri, 2014). La temperatura favorable para el crecimiento de la mayoría de los probióticos se encuentra entre 37 y 43 °C (Boylston, *et al.* 2004; Tripathi y Giri, 2014). Sin embargo, especies como *L. acidophilus*, que su crecimiento está entre 40 y 42 °C, también pueden crecer a temperaturas de hasta 45 °C. Temperaturas superiores a 50 °C durante el procesamiento reducen la supervivencia probiótica (Tripathi y Giri, 2014).

• Operaciones de congelación y descongelación

Los microorganismos probióticos pueden sobrevivir durante más tiempo en productos congelados. No obstante, las membranas celulares de los probióticos se dañan durante el proceso de congelación por las tensiones mecánicas de los cristales de hielo formados tanto en el medio externo o dentro de las células, lo que les causa lesiones fatales (Tripathi y Giri, 2014). La tasa de congelación afecta la supervivencia celular debido a que los cristales de hielo más grandes, producidos por una congelación lenta, causan un mayor deterioro a las células, y por otra parte la congelación rápida ayuda a una mejor supervivencia de los microorganismos en los productos (Fowler y Toner, 2005; Mohammadi, *et al.* 2011; Tripathi y Giri, 2014). Por otro lado, la mortalidad de los microorganismos probióticos también se produce durante la descongelación debido a la exposición de las células microbianas a los efectos osmóticos, así como a las altas concentraciones de iones de hidrógeno, ácidos orgánicos y el oxígeno (Tripathi y Giri, 2014).

• Secado

Los alimentos con probióticos se pueden secar para aumentar su vida útil a temperatura ambiente y para reducir el costo de almacenamiento congelado. Secar los alimentos probióticos es un desafío, ya que puede causar una pérdida severa en la viabilidad de los probióticos (Santivarangkna, *et al.* 2006; Tripathi y Giri, 2014). El secado por aire caliente, la liofilización y el secado por pulverización son los métodos más comunes utilizados para el secado de productos alimenticios con probióticos (Tripathi y Giri, 2014).

• Liofilización

En esta técnica de secado, las células se congelan primero a temperaturas tan bajas como -190 °C y luego se secan por liofilización a alto vacío (Tripathi y Giri, 2014). La liofilización preserva la morfología de las microcápsulas probióticas y se han logrado

altas tasas de supervivencia en comparación al secado por pulverización o “spray drying” (Wang, *et al.* 2004; Chen y Mustapha, 2012; Tripathi y Giri, 2014). Sin embargo, durante la congelación, el daño a las células depende de su tamaño, cuanto mayor es el área superficial de la célula, mayor es el daño de la membrana debido a la formación de cristales de hielo extracelulares. Por lo tanto, células pequeñas esféricas como los enterococos son más resistentes a la congelación y sobreviven mejor en comparación con células en forma de bastón como los lactobacilos (Fonseca, *et al.* 2000; Tripathi y Giri, 2014). Los parámetros de liofilización son críticos para la supervivencia bacteriana, por lo que existe una necesidad de optimizar, para cada especie o tipo de probiótico, los parámetros del proceso de secado (Bergenholtz, *et al.* 2012; Tripathi y Giri, 2014).

- **Secado por pulverización o “spray drying”**

El secado por pulverización es un método alternativo y económico en comparación de la liofilización y, además, produce tasas de producción más elevadas (Zamora, *et al.* 2006; Tripathi y Giri, 2014). El proceso de secado por pulverización implica la inyección de alimentos líquidos en forma atomizada en un medio de secado caliente a temperaturas de entre 160 y 200 °C. Por lo tanto, los productos con probióticos están expuestos a temperaturas muy altas durante un tiempo muy corto (“flash”), que es de aproximadamente 5 a 15 segundos, que puede resultar perjudicial para las células bacterianas vivas (Tripathi y Giri, 2014). Se ha informado sobre el rendimiento del secado por pulverización de una alta variedad de probióticos. Gardiner *et al.* (2002) lograron una tasa de supervivencia mayor al 80% de una variante resistente de *Lactobacillus paracasei* a temperaturas de salida de 85-90 °C. Mientras que Ananta y Knorr (2003) informaron una tasa de supervivencia superior a 60% para *L. rhamnosus* bajo condiciones similares de temperatura de salida. Además, Kim y Bhowmik (1990) y Gardiner *et al.* (2000) informaron que el número de diferentes especies bacterianas (*Streptococcus salivarius* subespecie *thermophilus*, *L. debrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. paracasei* NFBC 338 y *L. salivarius* UCC 118) disminuyeron al aumentar las temperaturas del aire de salida o, de entrada, así como la presión del aire de atomización. Dado esto, la viabilidad se puede mejorar reduciendo las temperaturas del aire de salida y de entrada durante el secado por pulverización. Sin embargo, es de consideración que el contenido de humedad final del polvo y su calidad también están influidos por la temperatura del aire de secado (Tripathi y Giri, 2014).

- **Rehidratación de productos probióticos secos.**

La temperatura de rehidratación es un factor importante que influye en la recuperación celular de los probióticos tanto liofilizados como secados por atomización (Tripathi y Giri, 2014). En bacterias termófilas una temperatura entre 30 y 37 °C mejora las viabilidades posteriores a la hidratación. Mientras que el intervalo óptimo para bacterias mesófilas es de 22-30 °C (Mille, *et al.* 2004; Tripathi y Giri, 2014). No existe una temperatura de rehidratación ideal para el crecimiento óptimo de todos los probióticos, pero es de notarse que en ningún caso la temperatura debe superar los 40 °C (Tripathi y Giri, 2014). La relación de polvo seco a medio líquido, así como la composición del medio de rehidratación pueden influir ampliamente en la recuperación del cultivo posterior a la hidratación (Tripathi y Giri, 2014). De Valdez, *et al.* (1985) encontraron que el recuento viable de diferentes cultivos probióticos era mayor de 4 a 10 veces cuando el polvo se agregaba a una pequeña cantidad de agua en la proporción de 1:3 en comparación con la relación 1:50 de polvo a líquido. Mientras que Costa *et al.* (2000) encontraron que un medio compuesto por peptona, triptona y extracto de carne para recuperar células bacterianas fue significativamente mejor vehículo que un medio como tampón de fosfato, glutamato de sodio y agua (Tripathi y Giri, 2014).

- **Microencapsulación**

La microencapsulación es un proceso que consiste en encerrar células probióticas recubriéndolas con una sustancia adecuada de tal forma que se produzca una liberación celular adecuada en el medio intestinal (Tripathi y Giri, 2014). Los materiales utilizados para encapsular las células probióticas incluyen polisacáridos como alginato, goma vegetal, quitosano, almidón, K-carragenano, acetato-ftalato de celulosa, gelatina, proteínas de la leche y grasas (Ying, *et al.* 2010; Burgain, *et al.* 2011; Tripathi y Giri, 2014). El microencapsulado ha funcionado con éxito para evitar factores perjudiciales durante el procesamiento y almacenamiento como un pH bajo, una alta acidez, presencia de sales biliares, golpes de calor causados por secado por atomización, descargas frías inducidas por congelación, bacteriófagos y agentes antimicrobianos químicos (Lee y Heo, 2000; Sultana, *et al.* 2000; Ding y Shah, 2007). Además, la microencapsulación protege a las células del calor extremo del proceso y ayuda a la inmovilización de las células para su distribución homogénea a través del producto (Krasaekoopt, *et al.* 2003; Tripathi y Giri, 2014).

Factores que afectan la supervivencia de probióticos durante el almacenamiento

La composición de los alimentos, ambiente de almacenamiento (temperatura, contenido de humedad, contenido de oxígeno, pH y acidez valorable) y los tipos de material de empaque tienen influencias significativas en la supervivencia de los probióticos (Mattila-Sandholm, *et al.* 2002; Tripathi y Giri, 2014).

• Ingredientes alimenticios y aditivos

Los ingredientes en los alimentos pueden ser protectores, neutros o perjudiciales para la estabilidad de los probióticos (Mattila-Sandholm, *et al.* 2002; Tripathi y Giri, 2014). Los aditivos generalmente utilizados en la industria alimentaria son distintos tipos de azúcares, edulcorantes, sales, compuestos aromáticos (diacetilo, acetaldehído y acetoína), aromatizantes y colorantes naturales o artificiales, nisina (un antibiótico de tipo polipéptido), natamicina, lisozima y nitrito (Tripathi y Giri, 2014). Estos aditivos afectan el crecimiento y la viabilidad de las bacterias. También se sabe que ciertos derivados de proteínas (concentrado de proteína de suero de leche, hidrolizado de caseína ácida y triptona) estimulan el crecimiento probiótico proporcionando nutrientes para las células, al reducir el potencial redox del medio y aumentar la capacidad de amortiguación (Dave y Shah, 1998; Tripathi y Giri, 2014).

• Ambiente de almacenamiento

- **Temperatura.** La viabilidad de las bacterias probióticas está inversamente relacionada con la temperatura de almacenamiento (Gardiner, *et al.* 2000; Tripathi y Giri, 2014). Diversos autores (Mortazavian, *et al.* 2007a; Tripathi y Giri, 2014) indican que los productos alimenticios probióticos deben almacenarse preferentemente a una temperatura de 4-5 °C. No obstante, existen estudios (Bruno y Shah, 2003; Mortazavian, *et al.* 2007 a y b) que demuestran que la viabilidad de los probióticos a distintas temperaturas de almacenamiento depende tanto de la especie como del tipo de procesamiento.
- **Humedad.** El contenido de humedad de los productos probióticos es otro factor que influye en la estabilidad de vida útil de las bacterias vivas. La cantidad de agua que queda después del secado afecta no solo la viabilidad de las bacterias, sino también la tasa de pérdida

de viabilidad durante el almacenamiento posterior (Tripathi y Giri, 2014). Zayed y Roos (2004) reportan que el contenido de humedad óptimo para el almacenamiento de *L. salivarius* liofilizado oscila entre el 2.8 y 5.6%.

- **Oxígeno.** El oxígeno molecular es perjudicial para la supervivencia y el crecimiento de los probióticos y este, puede afectar a los probióticos de tres formas: (i) es directamente tóxico para algunas células, (ii) ciertos cultivos producen peróxidos tóxicos en presencia de oxígeno y (iii) los radicales libres producidos por la oxidación de componentes (e. g. grasas) son tóxicos para las células probióticas (De Vuyst, 2000; Tripathi y Giri, 2014; Mizielnińska, *et al.* 2017). Dentro del paquete durante el almacenamiento de los productos probióticos, el nivel de oxígeno debe ser lo más bajo posible para evitar la toxicidad y la muerte del microorganismo y la consiguiente pérdida de funcionalidad del producto (Tripathi y Giri, 2014). También, el grado de sensibilidad al oxígeno varía considerablemente entre las diferentes especies y cepas de probióticos (Talwalkar y Kailasapathy, 2004; Kawasaki, *et al.* 2006; Tripathi y Giri, 2014). Las bifidobacterias son más vulnerables al daño por oxígeno que *L. acidophilus* debido a su naturaleza anaeróbica (Tripathi y Giri, 2014).
- **pH y acidez valorable.** La supervivencia de los probióticos durante el almacenamiento es considerablemente afectada por el pH y la acidez valorable de los productos (Tripathi y Giri, 2014). Un valor de pH muy bajo aumenta la concentración de ácidos orgánicos no disociados en los productos fermentados, lo que aumenta el efecto bactericida de estos ácidos (Tripathi y Giri 2014). El intervalo óptimo de pH para el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium* está entre 5.5-6.0 y 6.0-7.0, respectivamente (De Vuyst, 2000). Sin embargo, Boylston, *et al.* (2004) indican que los lactobacilos son capaces de crecer y sobrevivir en productos fermentados con valores de pH entre 3.7 y 4.3.

Beneficios de los probióticos en humanos

Los beneficios de salud previstos por los probióticos sólo se pueden obtener cuando el alimento contiene el recuento mínimo de microorganismos viables requerido en el momento del consumo. La FDA recomienda que el conteo mínimo de probióticos en un alimento probiótico sea al menos de 10⁶ UFC/

mL (Boylston, *et al.* 2004; Tripathi y Giri, 2014) y la industria alimentaria ha adoptado esta cantidad como nivel mínimo recomendado. De acuerdo a Lee (2015), la mayoría de los efectos beneficiosos se asocian con la salud, el equilibrio de la microbiota intestinal, la prevención de la diarrea infecciosa, la mejora de la intolerancia a la lactosa, la mejora de la absorción de calcio, la síntesis de vitaminas, la pre-digestión de proteínas, grasas, carbohidratos, una mejor biodisponibilidad de nutrientes, actividad antimicrobiana contra infecciones gastrointestinales, alivio del estreñimiento, adherencia y resistencia a la colonización y mantenimiento de la integridad de la mucosa (Fig. 2). Lee también indica que otros beneficios nuevos han surgido durante las últimas dos décadas, e incluyen la reducción del colesterol sérico, la reducción de los mutágenos que pueden inducir tumores y el aumento de la respuesta del sistema inmunológico (Fig. 2). Además, existen evidencias que apoyan posibles aplicaciones clínicas de los probióticos en la prevención y el tratamiento de enfermedades urogenitales y enfermedades respiratorias (Gardiner, *et al.* 2002; Tripathi y Giri, 2014) (Fig. 2).

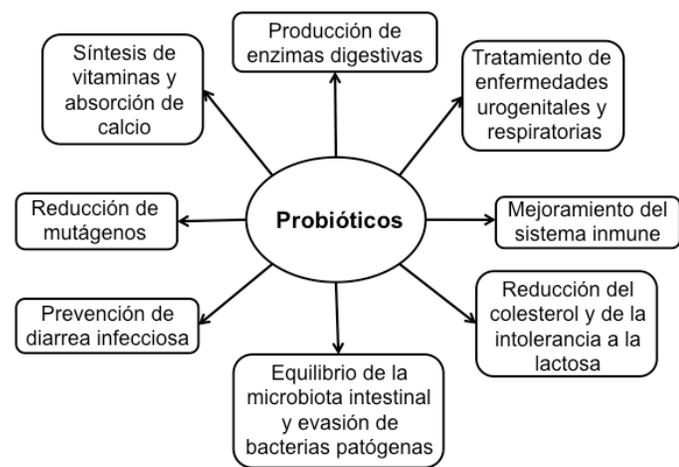


Figura 2. Beneficios de probióticos en la salud.

Características que debe cumplir un probiótico para su uso en acuicultura

Para que un probiótico pueda ser utilizado en la industria acuícola, debe cumplir con ciertas características, las cuales difieren en cierta medida con las características generales de un probiótico usado en animales terrestres. Merrifield, *et al.* (2010) hacen una revisión de las características favorables para la selección de probióticos potenciales para este fin. Los criterios esenciales son: 1) Los probióticos no deben ser patógenos, no solo con respecto a la

especie hospedera sino también con respecto a los animales acuáticos en general y los consumidores humanos; 2) deben estar libres de genes de resistencia a los antibióticos codificados por plásmidos y 3) deben ser resistentes a las sales biliares y un pH bajo. Mientras que como criterios favorables los probióticos deben: 1) poder adherirse y/o crecer bien dentro de la mucosa intestinal; 2) ser capaces de colonizar la superficie epitelial intestinal; 3) registrarse para su uso como aditivo alimentario; 4) mostrar características de crecimiento ventajosas (por ejemplo, corto período de demora, un corto tiempo de duplicación) y/o crecimiento a temperaturas de crianza del hospedero; 5) exhibir propiedades antagonicas hacia uno o más patógenos claves. Un ejemplo es el caso de los salmónidos, en donde las bacterias objetivo serían: *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* y *Yersinia ruckeri*, altamente patógenas en esta especie; 6) producir enzimas digestivas extracelulares relevantes (e.g. quitinasa si ingredientes ricos en quitina se incorporan a la dieta, o celulosa si la dieta es rica en ingredientes vegetales o producen vitaminas; 7) ser autóctono del hospedero o del entorno de crianza; 8) ser viable en condiciones normales de almacenamiento y lo suficientemente robusto para sobrevivir los procesos de producción de los alimentos a nivel industrial.

Probióticos utilizados en acuicultura de peces

Así como en otras áreas de la producción alimenticia, en acuicultura también existen ciertos probióticos que se han utilizado preferentemente, siendo estos: *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. sakei*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus cereus*, *B. coagulans*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. toyoi*, *Bifidobacterium bifidum*, *Brochothrix thermosphacta*, *Pediococcus acidilactici*, *Aeromonas sobria*, *Carnobacterium*, *Clostridium butyricum*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus faecium*, *S.thermophilus*, *Shewanella putrefaciens*, *Debaryomyces hansenii* y *Saccharomyces cerevisiae*.

• Efectos del uso de probióticos en la acuicultura de peces de agua dulce, marinos y eurihalinos

En peces de agua dulce, marinos y eurihalinos se han aplicado probióticos de origen autóctono o alóctono en periodos de entre 2 semanas y 2 meses. La mayoría de los probióticos suministrados son de origen alóctono, es decir, son adquiridos de empresas comerciales, de colecciones de instituciones de investigación, o bien, de la misma especie, pero aislado en otra época y/o en otro sitio de muestreo.

Los estudios de peces de agua dulce indican que sólo el 30% de los probióticos utilizados son de origen autóctono, en donde han sido aislados del intestino de peces y aplicados a los mismos para determinar así sus efectos.

Los probióticos que se han aislado de la microbiota autóctona y aplicado a peces con importancia comercial han sido las bacterias *Carnobacterium* sp., *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas* M162, *Pseudomonas* spp., y bacterias ácido lácticas (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*) y levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*). Los mejores efectos de estos probióticos se han observado, en la mayoría de los casos, cuando se aplican en cóctel (i.e. mezcla de dos o más especies), incrementando actividades enzimáticas, en particular de enzimas digestivas, y aumentando el crecimiento y la supervivencia de los peces.

Para el caso de probióticos alóctonos, adquiridos de empresas comerciales, los mejores efectos ocurren también cuando son aplicados en conjunto de dos o más microorganismos. Sin embargo, hay estudios donde la aplicación de un solo probiótico comercial causa múltiples efectos favorables a los peces alimentados con estos microorganismos. Por ejemplo, al aplicarse *Lactobacillus acidophilus* al bagre africano *Clarias gariepinus*, se obtuvo mayor crecimiento, supervivencia, producción de eritrocitos, de glóbulos blancos, así como mayor producción de iones de Ca^{2+} , Mg^{2+} y Cl^- (Al-Dohail, et al. 2009). Otro ejemplo es el probiótico *Pediococcus acidilactici* suministrado a la tilapia *Oreochromis niloticus* que provoca mejoras de la supervivencia, incrementa la presencia de bacterias ácido-lácticas dentro del intestino, así como de la respuesta inmune (Ferguson, et al. 2010; Standen, et al. 2013). Respecto a los métodos de aplicación, estos se pueden considerar adecuados, mientras se hagan pruebas de viabilidad después de aplicarlos a las dietas, y la dosis sea apropiada.

Potencial del uso de probióticos en acuicultura de peces en México

En México, la producción de peces de agua dulce por medio de la acuicultura ha ido al alza en los últimos años. Los peces que destacan en esta actividad son la tilapia (*Oreochromis niloticus*), la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y la carpa común y herbívora (*Cyprinus carpio* y *Ctenopharyngodon idella*, respectivamente). Aunque en México, la producción acuícola de estos peces ha ido incrementándose a través de los años, aún existe mucho potencial para que esta producción crezca aún más. Una opción

viable de mejora es la aplicación de probióticos a las dietas del alimento que se otorga a estas especies en cultivo en las distintas granjas del país. Existe la certeza, en base a los diferentes estudios realizados en el extranjero y sólo tres en México (Lara-Flores, et al. 2003 y 2010; Lara-Flores y Olivera-Novoa, 2013), en donde se aplicaron probióticos a las mismas especies que se cultivan en México, que estos microorganismos probióticos han mejorado principalmente la producción y la supervivencia, lo que en la industria acuícola es claramente reflejado en ganancia económica. Además, el uso de probióticos también se pudiera aplicar a especies de peces endémicas de las que se sabe, tienen alto potencial acuícola como el pez blanco de Pátzcuaro *Chirotoma estor* y la acúmara *Algansea lacustris*, entre otras muchas especies.

Conclusiones

En la acuicultura, la aplicación exitosa de probióticos puede resultar difícil, ya que la dispersión y viabilidad del probiótico en el agua se dificulta. No obstante, la aplicación de tecnologías para incluirlos en alimentos, protegerlos durante el procesamiento y almacenamiento como son la microencapsulación, la inclusión de aditivos alimentarios y los materiales de envasado han permitido que estos microorganismos sobrevivan mejor y puedan ser ofrecidos a los peces de una manera segura y eficiente (Tripathi y Giri, 2014). Además, se debe de considerar qué especie o cepa probiótica es viable utilizar de acuerdo a los métodos de procesamiento, inclusión y almacenamiento disponibles. Con respecto a los efectos probióticos considerando el origen de estos, en estudios de peces de los diferentes ambientes, no se han encontrado diferencias, ya que probióticos autóctonos o aloctónos (i.e. comerciales y proporcionados por instituciones) causan efectos positivos en su mayoría, respecto al crecimiento, la supervivencia, la respuesta inmune, la producción de enzimas digestivas, la modulación del intestino y la modulación de microbiota intestinal (bacterias ácido lácticas y patógenas). No obstante, al aplicarse probióticos de forma combinada, ya sean de origen autóctono o alóctono, se incrementa el número de efectos benéficos que estos causan en los peces.

La mayoría de las especies de peces de donde se han aislado y aplicado probióticos son las mismas que se cultivan en México. Por ende, el potencial probiótico se puede aplicar en un futuro cercano perfectamente a granjas de nuestro país, para obtener así resultados favorables en la mejora del crecimiento y supervivencia. Por otro lado, la investigación del

uso de probióticos en especies endémicas de México debe ser fomentada y apoyada, poniendo énfasis en especies con potencial uso acuícola, tales como el pescado blanco *Chirostoma estor* y la acúmara *Algansea lacustris*, así como los cíclidos nativos y los pejelagartos, además de las especies marinas como los lenguados de Baja California, los pargos, las cabrillas y los robalos, todos ellos cultivados a diferentes niveles en México. El uso de esta biotecnología podría detonar el cultivo comercial de especies nativas altamente consumidas en el mercado interno y de exportación, y en consecuencia traer beneficios económicos y nutricionales a las diversas regiones del país.

Literatura citada

- Al-Dohail M A, Hashim R, Aliyu-Paiko M. Effects of the probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. *Aquaculture Research* 2009; 40: 1642-1652.
- Ananta E, Knorr D. Pressure-induced thermo tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Research International* 2003; 36: 991-997.
- Ashley PJ. Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science* 2007; 104: 199-235.
- Bergenholtz A S, Wessman P, Wuttke A, Håkansson S. A case study on stress preconditioning of a *Lactobacillus* strain prior to freeze-drying. *Cryobiology* 2012; 64 (3): 152-159.
- Boylston T D, Vinderola C G, Ghoddusi H B, Reinheimer J A. Incorporation of *Bifidobacteria* into cheeses: Challenges and rewards. *International Dairy Journal* 2004; 14: 375-387.
- Bruno F A, Shah N P. Viability of two freeze-dried strains of *Bifidobacterium* and commercial preparations at various temperatures during prolonged storage. *Journal of Food Science* 2003; 68: 2336-2339.
- Burgain J J, Gaiani C C, Linder M R, Scher J J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering* 2011; 104(4): 467-483.
- Cabello F C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology* 2006; 8: 1137-1144.
- Chen M, Mustapha A. Survival of freeze-dried microcapsules of α -galactosidase producing probiotics in a soy bar matrix. *Food Microbiology* 2012; 30: 68-73.
- Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA). Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca Edición 2017. Mazatlán, Sinaloa. 2017. 293.
- Costa E, Usall J, Teixido N, Garcia N, Vinas I. Effect of protective agents, rehydration media and initial cell concentration on viability of *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 subjected to freeze drying. *Journal of Applied Microbiology* 2000; 89: 793-800.
- Dave R I, Shah N P. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *Journal of Dairy Science* 1998; 81: 2804-2816.
- De Valdez G F, De Giori G S, De Ruiz Holgado A P, Oliver G. Effect of drying medium on residual moisture content and viability of freeze-dried lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 1985; 49: 413-415.
- De Vuyst L. Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food Technology and Biotechnology* 2000; 38: 105-112.
- Ding W K, Shah N P. Acid, bile, and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria. *Journal of Food Science* 2007; 72(9): M446-M450.
- FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Roma, Italia. 2018. 233.
- FAO. Fats and fatty acids in human nutrition: Report of an expert consultation. Roma, Italia. 2010. 166.
- FAO/WHO. ICMR-DBT guidelines for evaluation of probiotics in food. *Indian Journal of Medical Research* 2011; 134: 5-22.
- FAO/WHO. Probiotics in food Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Roma, Italia. 2006. 50.

- Ferguson R M W, Merrifield D L, Harper G M, Rawling M D, Mustafa S, Picchiatti S, *et al.* The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Microbiology* 2010; 109: 851-862.
- Fonseca F, Beal C, Corrieu G. Method of quantifying the loss of acidification activity of lactic acid starters during freezing and frozen storage. *The Journal of Dairy Research* 2000; 67: 83-90.
- Fowler A, Toner M. Cryo-injury and biopreservation. *Annals of New York Academy of Sciences* 2005; 1066: 119-135.
- Gardiner G E, Bouchier P, O'Sullivan E, Kelly J, Kevin Collins J, Fitzgerald G. A spray-dried culture for probiotic Cheddar cheese manufacture. *International Dairy Journal* 2002; 12(9): 749-756.
- Gardiner GE, O'Sullivan E, Kelly J, Auty M A, Fitzgerald G F, Collins J K, *et al.* Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying. *Applied and Environmental Microbiology* 2000; 66: 2605-2612.
- Kawasaki S, Mimura T, Satoh T, Takeda K, Niimura Y. Response of the microaerophilic *Bifidobacterium* species, *B. boum* and *B. thermophilum*, to oxygen. *Applied and Environmental Microbiology* 2006; 72: 6854-6858.
- Kim SS, Bhowmik SR. Survival of lactic acid bacteria during spray-drying of plain yoghurt. *Journal of Food Science* 1990; 55: 1010-2008.
- Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal* 2003; 13: 3-13.
- Lara-Flores M, Olivera-Castillo L, Olivera-Novoa M A. Effect of the inclusion of a bacterial mix (*Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*), and the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth, feed utilization and intestinal enzymatic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Fisheries and Aquaculture* 2010; 2: 93-101.
- Lara-Flores M, Olivera-Novoa M A, Guzmán-Méndez B E, López-Madrid W. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 2003; 216: 193-201.
- Lara-Flores M, Olivera-Novoa M A. The use of lactic acid bacteria isolated from intestinal tract of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), as growth promoters in fish fed low protein diets. *Latin American Journal of Aquatic Research* 2013; 41: 490-497.
- Lee BH. *Fundamentals of Food Biotechnology*. 2nd edition. Oxford: John Wiley & Sons, 2015. 518.
- Lee KY, Heo TR. Survival of *Bifidobacterium longum* immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salts solution. *Applied and Environmental Microbiology* 2000; 66: 869-873.
- Mattila-Sandholm T, Myllarinen P M, Crittenden R, Mogensen G, Fonden R, Saarela M. Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal* 2002; 12: 173-182.
- Merrifield D L, Dimitroglou A, Foey A, Davies S J, Baker R T M, Bøggwald J, *et al.* The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture* 2010; 302: 1-18.
- Mille Y, Obert J P, Beney L, Gervais P. New drying process for lactic bacteria based on their rehydration behavior in liquid media. *Biotechnology and Bioengineering* 2004; 88: 71-76.
- Mizielińska M, Sobecka K, Jarosz M, Urbański D, Stobińska M, Łukawska B, *et al.* The influence of immobilization and packaging on the viability of probiotics stored at 25 °C. *World Scientific News* 2017; 77(2): 124-143.
- Mohammadi R, Mortazavian A M, Khosrokhavar R, Cruz A G. Probiotic ice cream: Viability of probiotic bacteria and sensory properties. *Annals of Microbiology* 2011; 61: 411-424.
- Mohammadian T, Alishahi M, Tabandeh M R, Ghorbanpoor M, Gharibi D. Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on growth performance, gut microbial flora and digestive enzymes activities in *Tor gryp*us (Karaman, 1971). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 2017; 16: 296-317.

- Mortazavian A M, Ehsani M R, Mousavi S M, Sohrabvandi S, Reinheimer J. Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic microorganisms in yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 2007a; 59: 123-127.
- Mortazavian A M, Razavi S H, Ehsani M R, Sohrabvandi S. Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. *Iranian Journal of Biotechnology* 2007b; 5: 1-18.
- Santivarangkna C, Kulozik U, Foerst P. Effect of carbohydrates on the survival of *Lactobacillus helveticus* during vacuum drying. *Letters in Applied Microbiology* 2006; 42: 271-276.
- Standen B T, Rawling M D, Davies S J, Castex M, Foey A, Gioacchini G, *et al.* Probiotic *Pediococcus acidilactici* modulates both localised intestinal and peripheral-immunity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology* 2013; 35: 1097-1104.
- Sultana K, Godward G, Reynolds N, Arumugaswamy R, Peiris P, Kailasapathy K. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology* 2000; 62: 47-55.
- Talwalkar A, Kailasapathy K. A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: Influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2004; 3: 117-124.
- Tripathi M K, Giri S K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods* 2014; 9: 225-241.
- Wang Y C, Yu R C, Chou C C. Viability of lactic acid bacteria and Bifidobacteria in fermented soymilk after drying, subsequent rehydration and storage. *International Journal of Food Microbiology* 2004; 93: 209-217.
- Ying D Y, Phoon M C, Sanguansri L, Weerakkody R, Burgar I, Augustin M A. Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG powders: Relationship of powder physical properties to probiotic survival during storage. *Journal of Food Science* 2010; 75(9): E588-E595.
- Zamora L M, Carretero C, Pares D. Comparative survival rates of lactic acid bacteria isolated from blood, following spray-drying and freeze-drying. *Food Science and Technology International* 2006; 12: 77-84.
- Zayed G, Roos Y H. Influence of trehalose and moisture content on survival of *Lactobacillus salivarius* subjected to freeze drying and storage. *Process Biochemistry* 2004; 39: 1081-1086.
- Zivkovic R. Probiotics or microbes against microbes. *Acta Medica Croatica* 1999; 53: 23-28.

Cuerpo académico UJE-CA-103 Ciencia y Tecnología de Alimentos
LGAC: Desarrollo e innovación de Alimentos

Nombre proyecto	Investigador responsable	
<p align="center">Potencial nutracéutico de maíz pigmentado cultivado en la comarca lagunera.</p>	<p align="center">Miguel Aguilera Ortiz</p> 	
<p align="center">Caracterización y purificación de la enzima coagulante de la leche presente en la <i>Moringa oleifera</i> y su uso potencial en la elaboración del queso de soya.</p>	<p align="center">Erick Sierra Campos</p> 	
<p align="center">Purificación y caracterización bioquímica de las proteasas de la semilla de <i>Moringa oleifera</i> Lam. Y su uso potencial en la producción de péptidos bioactivos por la hidrólisis de la K-caseína y β-conglucina</p>		
<p align="center">Los polifenoles del extracto de <i>Moringa oleifera</i> evitan la disfunción mitocondrial y estimular el estado redox celular en ratas con diabetes tipo II.</p>		
<p align="center">Proteómica y genómica de especies bacterianas y virales aisladas de especies animales</p>		
<p align="center">El extracto de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> protege contra la dislipidemia metabólica en ratas diabéticas al regular la paraoxonosa-1 y la oxidonitricosintasa</p>		
<p align="center">Compuestos activos con capacidad hipoglucemiante en <i>Cnidioscolus chayamansa</i> (chaya), <i>Euphorbia prostrata</i> (Hierba de la golondrina), y <i>Jathrophia dioica</i> (Sangre de drago).</p>	<p align="center">Juan Ramón Esparza Rivera</p> 	
<p align="center">Producción de hortalizas de alta rentabilidad con sustratos y soluciones nutritivas orgánicas bajo invernadero.</p>		
<p align="center">Diseño y uso de cubiertas comestibles a base de polisacáridos para aumentar la vida de anaquel de frutas y hortalizas</p>	<p align="center">Jorge Armando Meza Velázquez</p> 	
<p align="center">Aplicación de tecnologías emergentes para la conservación de alimentos</p>		

ALIMENTOS

(Alimentos funcionales e innovación de los alimentos)



*“¡Eureka! Lo encontré”
Arquímedes (285-212 a. C.): matemático, físico e inventor griego.*

Determinación fisicoquímica a base de un liofilizado del fruto de *Morus nigra* recolectado de árboles de la comarca lagunera

¹Jesús Iván García Castañeda, ¹Joaquín Avalos Soto, ¹Miguel Aguilera Ortiz, ¹Aurora Martínez Romero, ²Rodolfo Gerardo Chew Madinaveitia, ¹José de Jesús Alba Romero, ¹Sandra-Isabel Hernández González

¹Laboratorio B de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas Campus Gómez Palacio, Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED) Dgo., Artículo 123 S/N Fracc. Filadelfia.

²Laboratorio de Procesamiento de Alimentos, Instituto Tecnológico de Torreón.

*E-mail: jigc_12@hotmail.com ; sandraisabel_70@hotmail.com

Resumen

Antecedentes: *Morus nigra* L. pertenece a la familia de las Moraceae y es una de las especies más importantes de este género. Además, es usualmente usada tanto como comida saludable como medicina tradicional debido a sus propiedades físicas y químicas. Numerosos estudios han investigado la composición física y química de diferentes especies de *moras*, sin embargo, estos estudios son muy limitados. El propósito de estudio fue evaluar e investigar, por primera vez, la composición física y química del fruto de *M. nigra* con la intención de crear un nuevo producto farmacéutico o alimentario en el futuro. *Métodos:* El contenido total de fenoles y la actividad antioxidante fueron evaluados usando métodos espectrofotométricos, mientras que el contenido de ceniza, humedad, proteína, grasa y fibra fueron determinados de acuerdo con la norma correspondiente. *Resultados:* Los valores del contenido total de fenoles y de la actividad antioxidante fueron 25.4 mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra, y 74.1% de inhibición, respectivamente. Por otro lado, los valores del contenido de ceniza, humedad, proteína, grasa y fibra fueron 4.2%, 7.9%, 3.9%, 0.5% y 3.6%, respectivamente. *Conclusión:* Nuestros resultados indican que el fruto de *M. nigra* L. de la Comarca Lagunera puede ser un candidato novedoso para el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos o alimentarios debido a las excelentes cualidades mostradas.

Palabras clave: Composición física y química, *M. nigra* L., compuestos fenólicos, actividad antioxidante, ceniza, humedad, proteína, grasa y fibra.

Abstract

Background: *Morus nigra* L. belongs to the family *Moraceae* and is one of the most important species of the genus *Morus*. Also, it is usually used as health food and traditional medicine due to its properties both physical and chemical. Numerous studies have investigated the physical and chemical composition of different *Morus* species, but these studies are very limited. The purpose of this study was to evaluate and to investigate, for first time, the physical and chemical composition of *M. nigra* fruit from Comarca Lagunera with the intent to create a new product pharmaceutical or food product in times to come. *Methods:* Total phenolic compounds and antioxidant activity were evaluated using spectrophotometric procedures, while ash, moisture, protein, fat and fiber content of *M. nigra* fruit were determinate according to their own standards, respectively. *Results:* Total phenolic compounds and antioxidant activity values were 25.4 mg gallic acid equivalents per g samples and 74.1% of inhibition rate, respectively. In the other hand, the values of the content of ash, moisture, protein, fat and fiber were 4.2%, 7.9%, 3.9%, 0.5% and 3.6%, respectively. *Conclusions:* Our results indicate that *M. nigra* fruit form Comarca Lagunera may be a novel candidate for the development of new products pharmaceutical or food product due to its excellent qualities showed.

Keywords: Physical and chemical composition, *Morus nigra* L, phenolic compounds, antioxidant activity, ash, moisture, protein, fat, fiber.

Introducción

Morus nigra L. (familia de *Moraceae*), también conocida como mora negra, es una de las especies más importantes del género *Morus* (Mascarello, Orbem Menegatti et al., 2018). Esta es nativa de Irán y pertenece tanto a las variedades de mora cultivada y silvestre (Feng, Wang et al. 2015). La mora fue domesticada hace miles de años y se adaptó a una amplia gama de condiciones climáticas, topográficas y del suelo (Popescu G., Velcirov et al., 2014). La fruta es en forma de zarzamora y típicamente negra, pero algunas veces de color azul oscuro con un sabor dulce (Zoofishan, Hohmann et al., 2018), y no solo eso, sino que otras partes de la planta de mora, tales como la raíz, la hoja y la fruta han sido usadas como parte de la medicina tradicional China por un largo tiempo (Liu Wang et al., 2016). Sin embargo, es difícil preservar la fruta fresca de mora debido a su baja acidez. Por esta razón, existe una necesidad real de aplicar tecnologías para mejorar su vida útil, cualidades nutricionales, organolépticas y los beneficios para la salud del fruto de la mora para impulsar la producción comercial con beneficios económicos y saludables (Kwaw, Ma et al., 2018). Por tanto, una manera de preservar las características físicas y químicas del fruto de la mora es mediante la liofilización. Pues, la liofilización (o secado por congelación) es un método comúnmente usado para la estabilización en estado de secado de moléculas termolábiles pequeñas, proteínas y otros productos biológicos. (Koranne, Thakral et al. 2018). En resumen, el proceso de secado por congelación es capaz de remover el agua del material que está siendo procesado mientras lo mantiene congelado. Para estudios metabólicos, representa la habilidad de deshidratar muestras sin degradar metabolitos (Aggio, Mayor et al. 2016). Por otro lado, el fruto de *M. nigra* es rico en compuestos fenólicos también son conocidos como antioxidantes (Qiu, Guo et al., 2018), antocianinas, proteínas, y vitaminas.

Los compuestos fenólicos tales como el ácido gálico, el ácido ascórbico, el ácido p-cumárico, el ácido cafeico, por mencionar algunos, tienen un gran significado nutricional, organoléptico y que dan las características comerciales de las frutas (Russo, Fanali et al., 2018). A causa de esto, *Morus nigra* Linn no solo es tratada como una comida saludable, sino que también es usada como una medicina. (Ma, Song et al. 2017). Por lo tanto, se está prestando una gran atención a los compuestos fenólicos y a la actividad antioxidante de los frutos de mora. (Oszmianski, Nowicka et al. 2015). También ha habido una tendencia global a remplazar antioxidantes

artificiales con antioxidantes naturales durante las dos últimas décadas. Los antioxidantes están siendo cada vez más utilizados en suplementos alimenticios como compuestos bioactivos (Safafar, van Wagenen et al. 2015). Ha sido demostrado que algunos antioxidantes pueden prevenir tanto la oxidación de CL y el desarrollo de patologías. (Lokhmatikov, Voskoboynikova et al. 2016). Por lo tanto, el propósito de este estudio fue evaluar e investigar, por primera vez, la composición física y química del fruto de *M. nigra* con la intención de crear un nuevo producto farmacéutico o alimentario en el futuro en el cual se puedan aprovechar sus propiedades fisicoquímicas.

Materiales y métodos

Recolección y extracción de la planta

Los frutos de *M. nigra* L. fueron recolectados en etapa madura de unos árboles de mora negra de la población de Bermejillo, Durango, México. Las muestras fueron preservadas en bolsas frescas para ser transportadas al laboratorio. Las frutas fueron liofilizadas a -40°C y una vez liofilizadas, fueron hechas polvo usando mortero y pistilo. Al polvo de la fruta (0.5 g) se le realizó un extracto con HCl 0.1N (acuoso) y Etanol (conc), EtOH: HCl 0.1N_{acuoso} (80:20). La extracción fue asistida con ultrasonido (Branson Ultrasonic Cleaner 3510R-MTH 40 KHz) de 40 a 50°C por 30 min. Los extractos obtenidos fueron filtrados y centrifugados a 3500 rpm por 10 min. El extracto de *M. nigra* se filtró con papel filtro Whatmann No. 1.

Cuantificación de compuestos fenólicos totales

El contenido de fenoles totales se estableció por el método espectrofotométrico de Slinkard y Singleton, 1977. Brevemente, 100 μl del extracto de *M. nigra* se mezcló con 250 μl del reactivo de Folin-Ciocalteu recién preparado y con 1,250 μl de carbonato de sodio al 20%. Este se incubó a temperatura ambiente por 30 minutos, después se midió a absorbancia a 760 nm. Los resultados se calcularon usando una curva de calibración con ácido gálico como standard y se reportaron como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra.

Determinación de actividad antioxidante

La actividad antioxidante del extracto de *M. nigra* se determinó por la capacidad del donante H^+ para el radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), de acuerdo al método espectrofotométrico de Fukumoto y Mazza. Entonces, 200 μl extracto de

M. nigra se mezcló con 2, 400 µl del reactivo DPPH recién preparado. Este se incubó a temperatura ambiente por 10 min y después se determinó a una absorbancia de 520 nm. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Abs. inicial} - \text{Abs. final}}{\text{Abs. inicial}} \times 100$$

Donde la absorbancia inicial es la absorbancia de la reacción del control (contiene todos los reactivos excepto el compuesto de la muestra) y la absorbancia final es la absorbancia de la muestra.

Determinación de cenizas

El porcentaje de cenizas se determinó mediante la NMX-F-066-S-1978. Entonces, en un crisol a masa constante, se colocó 3 g de muestra. Luego, se pre incineró la muestra en un mechero. El crisol se colocó en la mufla a 600 °C, y se incineró la muestra por 2 horas, después este se movió a un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente. Se pesó el crisol y se realizaron los cálculos y se reportaron como porcentaje de cenizas en seco.

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{\text{Peso de cenizas (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Determinación de Humedad

El porcentaje de humedad de *M. nigra* se determinó en cumplimiento de la NMX-F-083-1983. Se pesó 5 g de la muestra en una cápsula previamente tarada. Después, se colocó la cápsula y la tapa en la estufa a 105°C por una hora. Esto fue transferido a un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente. Finalmente, se pesó cada charola con la muestra. Los resultados se calcularon por diferencia de pesos y se expresaron en porcentaje.

$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{Peso de la muestra seca (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Determinación de Proteínas

El contenido de proteínas se estableció de acuerdo con la NMX-F-068-S-1980. Primeramente, se pesó 1 g de la muestra y se colocó en un matraz Kjeldahl. Luego, a este se le añadió 2 g de sulfato de cobre, 10 g de sulfato de anhídrido, 25 cm³ de ácido sulfúrico y unas perlas de vidrio. Brevemente, se colocó el matraz en un digestor y se calentó cuidadosamente hasta que todo el material se carbonizó, gradualmente se

aumentó la temperatura hasta que la solución estuvo completamente clara. Esta se incubó a temperatura ambiente por 30 minutos. Después, se le añadió 450 cm³ lo cual se mezcló con gránulos de zinc y 50 cm³ de hidróxido de sodio 1:1. Inmediatamente se colocó en un sistema de destilación, al cual se le colocó previamente un matraz Erlenmeyer con 50 cm³ de ácido bórico y unas gotas del reactivo de Shiro Tashiro como indicador. Finalmente, se retiró el matraz Kjeldahl y se tituló el destilado con ácido clorhídrico 0.1 N. Los resultados se calcularon y se expresaron en porcentaje.

$$\% \text{ de proteína} = \frac{V \times N \times 0.014}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Determinación de Grasas

El contenido de grasas se obtuvo mediante la NMX-F-427-1982. Se pesó 2 g de muestra en un vaso de 50 cm³, la cual se mezcló con 2 cm³ de alcohol, 10 cm³ de ácido clorhídrico. Este se colocó en un baño María con agua a 80°C y se agitó durante 40 minutos con intervalos de 5 minutos. Luego, se añadió 10 cm³ alcohol y se incubó a temperatura ambiente. Una vez esto, se transfirió a un frasco de Mojonnier, se lavó con 25 cm³ de éter etílico en 3 porciones, el cual se agito por 60 segundos. Brevemente, se incubó a temperatura ambiente y se decantó la solución clara sobre papel filtro. La capa de éter-grasa se decantó, y se filtró en un embudo, el éter se obtuvo en un vaso de 125 cm³ el cual fue previamente pesado. Finalmente, se extrajo el líquido sobrante 2 veces más con 15 cm³ de éter. Se secó en estufa por 90 minutos a 100°C y se pesó los recipientes al alcanzar la temperatura ambiente. El valor se expresó en porcentaje.

$$\% \text{ de grasa} = \frac{\text{Peso de la grasa (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Determinación de fibra

El contenido de fibra se determinó mediante la NMX-F-090-S-1978. Se pesó 2 g de muestra en un vaso de 600 cm³, la cual se mezcló con 1 g de asbesto preparado y con 200 cm³ de ácido sulfúrico al 1.25% a ebullición. Brevemente, el vaso se colocó en un digestor sobre la placa y se llevó a ebullición por 30 minutos. Durante esos 30 minutos, el vaso se agitó periódicamente. Después, el contenido del vaso de filtró con papel filtro. Se lavó el residuo con agua destilada a temperatura de ebullición hasta que el agua obtuvo un pH igual al del agua destilada. El residuo se colocó y se mezcló con 200 cm³ de hidróxido

de sodio al 1.25% a temperatura de ebullición por 30 minutos. La solución obtenida se filtró con Büchner con papel filtro. Nuevamente, se lavó el residuo con agua a temperatura de ebullición hasta que el agua obtuvo un pH igual al del agua destilada. Finalmente, el residuo se colocó en un crisol a masa constante, se secó a 130°C por el espacio de 2 horas y se determinó su masa. Entonces, se calcinó a 600°C por 30 minutos y se determinó su masa. Los resultados se expresaron en porcentaje.

$$\% \text{ de fibra} = \frac{\text{Peso de la fibra (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Resultados

El contenido total de fenoles fue 25.4 mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra, mientras que el porcentaje inhibición de la actividad antioxidante fue 74. 1. Los resultados del análisis bromatológico de los análisis de cenizas, humedad, proteínas, grasas y fibra se declararon en porcentaje. El porcentaje de cenizas fue 4.2%, para humedad fue 7.9%, para proteínas fue 3.9%, en grasas fue 0.5% y en fibra 3.6%.

Discusión

Las plantas son organismos pluricelulares eucariontes formados por órganos y tejidos que les permiten crecer y desarrollarse de manera adecuada. Además, las plantas son excelentes fuentes de alimentos, productos químicos y hierbas medicinales (I. Turan et al., 2017). Y los órganos y tejidos de muchas especies de plantas contienen metabolitos secundarios con un gran potencial (Naz et al., 2017), por lo tanto, dichos metabolitos secundarios son específicos de cada especie y son responsables de las características organolépticas, del valor nutricional y propiedades farmacológicas de las plantas. Así, el desarrollo de la fruta se divide en la fase temprana cuando las frutas comienzan a crecer, y la fase de maduración cuando las frutas experimentan cambios dramáticos en el desarrollo como el ablandamiento, los cambios de color y la producción de compuestos aromáticos y de sabor (Liao et al., 2018).

Morus nigra Linn no solo es tratada como una comida saludable, sino que también es usada como una medicina (Ma et al., 2017) Es debido al uso extendido de la fruta de mora para diversos fines, que el estudio de la composición de la fruta de mora ha sido tomado en mayor consideración (Bao, Xu et al., 2016). *Morus nigra* L. (familia de *Moraceae*), también conocida como mora negra, es una de las especies más importantes del género *Morus* (Mascarello, Orbem Menegatti et

al., 2018), pues su fruto es rico en carbohidratos y es una fuente de muchos compuestos bioactivos como antocianinas, compuestos fenólicos y vitaminas (Tabakoglu, N. y H. Karaca, 2018). Además, se ha reportado que exhibe propiedades biológicas tales como antidiabéticas, antioxidantes, antiinflamatorias y actividades antihiperlipidémicas (I. Turan et al., 2017). Pues se han encontrado varios estudios en los que se han investigado las características fisicoquímicas del fruto de mora negra en años recientes (Montenote et al., 2017; Popescu G., Velciov et al., 2014), pero esos estudios son muy limitados y escasos. Debido a que no hay ningún estudio reciente que muestre las características fisicoquímicas del fruto de *Morus nigra* de la región de la Comarca Lagunera. Por tanto, planeamos este estudio sobre las características fisicoquímicas del liofilizado de *M. nigra* de la región de la Comarca Lagunera. Para este estudio, muchos solventes son usados tales como etanol, hexano, cloroformo y acetato de etilo con el fin de realizar la extracción de componentes (Souza G. R. et al., 2018). Mientras que el extracto EOH: HCl 0.1N_{acuoso} (80:20) de *M. nigra* fue el preparado en este estudio. El contenido total de fenoles, la actividad antioxidante, y así como los porcentajes de humedad, cenizas, proteínas, grasas y fibra se emplearon para determinar las características fisicoquímicas en este estudio. El valor del contenido total de fenoles del extracto de fruta de *M. nigra* fue 25.4 mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra. En cambio, Turan y colaboradores reportaron en el contenido total de fenoles del extracto del fruto de *M. nigra* de una región de Turquía un valor de 20.7 mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (I. Turan et al., 2017). Nuestros resultados fueron un poco superiores comparados con esos estudios. Además, en la determinación de la actividad antioxidante expresado como porcentaje de inhibición el valor obtenido fue 74 %, mientras que, Feng y colaboradores reportaron el porcentaje de inhibición del extracto del fruto de *M. nigra* de una región de China con un valor de 80.33%. (Feng et al., 2015). Nuestros resultados se muestran un poco inferiores comparados con esos resultados. En este estudio, el porcentaje de cenizas del liofilizado del fruto de *M. nigra* fue 4.2%, no obstante, el porcentaje de cenizas del fruto de *M. alba* de una región de Costa Rica se ha reportado a 2.5%. (Boschini y Vargas, 2009). En comparación con los resultados de esos estudios nuestros resultados son aproximadamente el doble. El valor del porcentaje de humedad del fruto de *M. nigra* liofilizado fue 7.9%. Por el contrario, Prieto y colaboradores reportaron en el porcentaje de humedad de hojas de *M. alba* de La Habana,

Cuba un valor de 75.9%. (Prieto et al., 2016) Nuestro resultado fue sumamente inferior comparado con ese estudio. De igual manera, el porcentaje de proteína del liofilizado del fruto de *M. nigra* obtenido fue un valor de 3.9%, mientras que se reportó el porcentaje de proteína de hojas de *M. alba* de La Habana, Cuba con un valor de 20.1%. (Prieto et al., 2016). Por lo tanto, cabe mencionar que la cantidad de humedad y proteínas puede variar de una región debido a las condiciones climáticas del lugar a las que este expuesta la planta, al estado físico (fresco, seco, o liofilizado) del órgano e incluso el órgano (raíz, tallo, hoja, fruto, etc.) de la planta utilizado a investigar, así como del suelo y el tipo de fertilizante usado en la planta. Nuestro resultado en comparación con ese estudio fue muy inferior. El valor del porcentaje de grasa del fruto de *M. nigra* reportado fue 0.5%. Sin embargo, el valor obtenido del fruto de *M. nigra* en otra región de Turquía fue 0.95%. (Ercisli y Orhan, 2007). En contraste con esa investigación, nuestros resultados muestran una cantidad inferior de grasa. En otro estudio, Boschini y Vargas reportaron en porcentaje de fibra del *M. alba* un valor de 6% (Boschini y Vargas, 2009), mientras que el valor reportado fue 3.6%. Nuestro resultado fue inferior comparado con ese estudio. Cualquier diferencia en alguno de nuestros resultados obtenidos puede haber sido debido a la especie y órgano o tejido de la planta utilizada, incluso al estado físico del órgano de la planta, es decir, si el órgano se encontraba en estado fresco, seco o liofilizado, al método de extracción y solvente, a factores ambientales a los cuales pueden haber estado expuesta la planta, tales como el tipo de suelo, el contacto con el agua, la región geográfica, el sistema de fertilización, la contaminación ambiental, así como a la temporada de cosecha, el grado de maduración de la fruta y a las condiciones de almacenamiento después de haber sido cosechada. Por lo tanto, especulamos que las características fisicoquímicas pueden ser muy variadas de un estudio a otro.

Conclusión

En conclusión, este estudio fisicoquímico del fruto de *M. nigra* recolectado de árboles la comarca lagunera aporta las bases necesarias para el desarrollo de un nuevo producto farmacéutico o alimentario basado en este fruto. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para la identificación individual de vitaminas, minerales y compuestos fenólicos del fruto para su completa aplicación medicinal o alimentaria.

Literatura citada

- Aggio Raphael B. M., Mayor Arno, Coyle Seamus, Reade Sophie, Khalid Tanzeela, Ratcliffe Norman M., y Probert Chris S. J., 2016. Freeze-drying: an alternative method for the analysis of volatile organic compounds in the headspace of urine samples using solid phase micro-extraction coupled to gas chromatography – mass spectrometry. *Chemistry Central Journal*. 10, 1-11.
- Bao Tao, Xu Yang, Gowd Vemana, Zhao Jingcheng, Xie Jiahong, Liang Wenkang y Chen Wei, 2016. Systematic study on phytochemicals and antioxidant activity of some new and common mulberry cultivars in China. *Journal of Functional Foods*. 25, 537-547.
- Boschini Figueroa Carlos y Vargas Rodríguez Claudio Fabián, 2009. Rendimiento y calidad de la morera (*Morus alba*) fertilizada con nitrógeno, fósforo y potasio.
- Ercisli Sezai y Orhan Emine, 2007. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. 103, 1380-1384.
- Feng Rui Zhang, Wang Qin, Tong Wen Zhi, Xiong Juan, Wei Qin, Zhou Wan Hai, Yin Zhong Qiong, Yin Xiao Ya, Wang Li Ying, Chen Ya Qin, Lai Yong Hong, Huang Hong Yan, Luo Qiao Li, Wang Lu, Jia Ren Yong, Zou Yuan Feng y Li Li Xia, 2015. . Extraction and antioxidant activity of flavonoids of *Morus nigra*. *Int J Clin Exp Med*. 8, 22328-22336.
- Fukumoto L. R., y G Mazza 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem*. 48, 3597-3604.
- Koranne Sampada, Thakral Seema y Suryanarayanan Raj, 2018. Effect of formulation and process parameters on the disproportionation of indomethacin sodium in buffered lyophilized formulations. *Pharm Res*. 35, 1-13.
- Kwaw Emmanuel, Ma Yongkun, Tchabo William, Apaliya Maurice Tibiru, Wu Meng, Sackey Augustina Sackle, Xiao Lulu y Tahir Haroon Elrasheid, 2018. Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidants activities of lactic acid fermented mulberry juice. *Food Chemistry*. 250, 148-154.
- Liao Xiong, Li Mengsi, Liu Bin, Yan Miaoling, Yu Xiaomin, Zi Hailing, Liu Renyi y Yamamuro Chizuko, 2018. Interlinked regulatory loops of ABA catabolism and biosynthesis coordinate fruit growth and ripening in woodland strawberry. *PNAS*. 49, 1542-1550.

- Liu Hua Yu, Wang Jiang, Ma Jing y Zhang Yu Qing, 2016. Interference effect of oral administration of mulberry branch bark powder on the incidence of type II diabetes in mice induced by streptozotocin. *Food and Nutrition*. 60, 1-11.
- Lokhmatikov Alexey V., Voskoboynikova Natalia, Cherepanov Dmitry A., Skulachev Maxim V., Steinhoff Heinz Jurgen, Skulachev Vladimir P. y Mulkidjianian Armen Y., 2016. Impact of antioxidants on cardiolipin oxidation in liposomes: Why mitochondrial cardiolipin serves as an apoptotic signal? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 1-19.
- Ma Xiao Li, Song Feng, Zhang Hui, Huan Xie y Li Song Ya, 2017. Compositional monosaccharide analysis of *Morus nigra* Linn by HPLC and HPCE quantitative determination and comparison of Polysaccharide from *Morus nigra* Linn by HPCE and HPLC. *Current Pharmaceutical Analysis*. 13, 433-437.
- Mascarello Alessandra, Orbem Menegatti Ángela Camila, Calcaterra Andrea, Alves Martins Priscila Graziela, Chiaradia De la Torre Louise Domeneghini, D'Acquarica Ilaria, Ferrari Franco, Pau Valentina, Sanna Adriana, De Logu Alessandro, Botta Maurizio, Botta Bruno, Terenzi Hernán y Mori Mattia, 2018. Naturally occurring diels-alder-type adducts from *Morus nigra* as potent inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase B. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 144, 277-288.
- Montenote Michelly Cristina, Wajsman Vithor Zuccaro, Konno Yoichi Takaki, Ferreira Paulo César, Gonsalves Silva Regildo Márcio, Silva Therezo Altino Luiz, Pereira Silva Luciana y Alves Martins Luciamáre Perinette, 2017. Antioxidant effect of *Morus nigra* on Chagas disease progression. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 1-11.
- Naz Rabia, Ayub Hafsa, Nawaz Sajid, Islam Zia, Yasmin Tayyaba, Bano Asghari, Wakeel Abdul, Zia Saquib y Roberts H. Thomas, 2017. Antimicrobial activity, toxicity and antiinflammatory potential of methanolic extracts of four ethnomedicinal plant species from Punjab, Pakistan. *Complementary and Alternative Medicine*. 17, 1-13.
- Oszmianski Jan, Nowicka Paulina, Teleszko Mirosława, Wojdyło Aneta, Cebulak Tomasz y Oklejewicz Krzysztof, 2015. Analysis of phenolic compounds and antioxidant activity in wild blackberry fruits. *Int. J. Mol. Sci*. 16, 14540-14553.
- Popescu G. Sofia, Velciov Ariana Bianca, Costescu Corina, Gogoasa I., Gravila Corina y Petolescu Cerasela, 2014. Chemical characterization of white (*Morus alba*), and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*. 18, 133-135.
- Prieto Abreu Marlene, Díaz Solares Maykelis, Pérez Hernández María del Carmen y Martín Prieto Dayron, 2016. Influencia de tres variedades de *Morus alba* L. en el crecimiento de *Bombyx mori* L. *Pastos y forrajes*. 3, 132-137.
- Qiu Daren, Guo Jie, Yu Huimei, Yan Jiao, Yang Shengxiang, Li Xiang, Zhang Yamei, Sun Jinzhu Cong Jie He Shuliang, Wei Dongsheng y Qin Jian Chun, 2018. Antioxidant phenolic compounds isolated from wild *Pyrus ussuriensis* Maxim fruit peels and leaves. *Food Chemistry*. 241, 182-187.
- Russo Marina, Fanali Chiara, Tripodo Giusy, Dugo Paola, Muleo Rosario, Dugo Laura, De Gara Laura y Mondello Luigi, 2018. Analysis of phenolic compounds in different parts of pomegranate (*Punica granatum*) fruit by HPLC PDA ESI/MS and evaluation of their antioxidant activity: application to different Italian varieties. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 1-14.
- Safar Hamed, Van Wagenen Jonathan, Moller Per y Jacobsen Charlotte, 2015. Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to the antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. *Mar. Drugs*. 13, 7339-7356.
- Slinkard, K., Singleton, V.L., 1977. Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *Am. J. Enol. Viticult*. 28, 49-55.
- Turan Ibrahim, Demir Selim, Kilinc Kagan, Burnaz Nesibe Arslan, Yaman Serap Ozer, Akbulut Kubra, Mentese Ahmet, Aliyazicioglu Yuksel y Deger Orhan, 2017. Antiproliferative and apoptotic effect of *Morus nigra* extract on human prostate cancer cells.
- Tabakoglu Nadide y Karaca Hakan, 2018. Effects of ozone enriched storage atmosphere on postharvest quality of black mulberry fruits (*Morus nigra* L.). *Food Science and Technology*. 92, 276-281.
- Zoofishan Zoofishan, Hohmann Judit y Hunyadi Attila, 2018. Phenolic antioxidants of *Morus nigra* roots, and antitumor potential of morusin. *Phytochem Rev*. 1-15.

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

Perfil de Ingreso

El aspirante a ingresar a esta Facultad con el deseo de cursar la Carrera de Químico Farmacéutico Biólogo, debe reunir las siguientes características:

- Conocimientos generales de las ciencias básicas como son: Química, Física, Matemáticas y Biología.
- Ser creativo y observador, tener capacidad de síntesis y análisis crítico.
- Tener espíritu emprendedor, una actitud proactiva, capacidad para trabajar en equipo.

Perfil de Egreso

El Químico Farmacéutico Biólogo es un profesionalista que:

- Resolver problemas en las áreas de Biotecnología, Ciencias de los Alimentos, Diagnóstico Clínico, Ambiental y Farmacéutico.
- Dedicarse a la producción de bienes y servicios en áreas relacionadas con la salud, Químico-Farmacéutico, Legal, Patología, Forense, Laboratorio de Diagnóstico Clínico, etc.
- Desarrollar con ética y responsabilidad la innovación de productos farmacéuticos con el propósito de mejorar la calidad de vida del paciente.

Cuerpo Académico UJE-CA-131 Ciencias Farmacoquímicas de Productos Naturales

LGAC: Farmacoquímica de los Productos Naturales

Nombre proyecto	Investigador responsable	
Resistencia bacteriana a los antibióticos y búsqueda de serotipos bacterianos de interés clínico	Concepción García Luján	 
Productos naturales con propiedades bioactivas en plantas del semidesierto y en productos de la colmena		
Desarrollo de diversos productos a base de cera de candelilla (<i>Euphorbia Antisiphylitica</i>)	Miguel Téllez López	 
Aislamiento e identificación de alcaloides presentes en las hojas de <i>Coffea arabica</i>		
Evaluación hipoglucemiante de diversas especies vegetales		
Actividad biológica, farmacológica e inhibición enzimática de los géneros <i>Cirsium Silybum</i>	Ruth Alanís Bañuelos	
Relevancia de polimorfismos genéticos para las reacciones adversas y la respuesta clínica a fármacos		
Biofortificación de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. con selenio		
Evaluación fitoquímica, toxicológica e identificación molecular de <i>Ibervillea sonorae</i> Greene	Ángeles Sáenz Esqueda	
Evaluación del contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de mezclas del gel de aloe vera (<i>Aloe barbadensis</i> Miller) y pasta prensada de uva (<i>Vitis vinifera</i>) obtenidas mediante la aplicación de ultrasonidos de potencia.		

QUÍMICA FARMACÉUTICA Y CLÍNICA

(Biotecnología, Toxicología, Farmacéutica, Clínica)



“La peor decisión es la indecisión”

Benjamin Franklin (1706-1790); filósofo, físico y político estadounidense.

Azoteas verdes: Alternativa de solución al cambio climático y calentamiento global

¹Iris Aurora Nava Jiménez, ^{1*}Hugo Sánchez Hernández

¹Programa Educativo de Ingeniería en Biotecnología. Universidad Politécnica de Quintana Roo. Av. Arco Bicentenario, M 11, Lote 1119-33, Sm 255, 77500 Cancún, Quintana Roo. México.
Teléfono: 01 (998) 283 1859 ext. 116.

Correo electrónico: hugo.sanchez@upqroo.edu.mx.

Resumen

El acelerado cambio climático, ocasionado por el crecimiento demográfico, directamente influenciado por la actividad humana, es evidente por los efectos que se generan en el entorno ambiental ocasionando así más necesidades. Es pertinente un intento de detenerlo y remediar los efectos generados. Una de las maneras de contrarrestar alguno de sus efectos, es la construcción de complejos habitacionales dentro del concepto de "viviendas sustentables", dentro de este esquema, se presenta en este escrito el tema como una alternativa al cambio climático, el desarrollo de azoteas verdes, estas son ecosistemas elaborados con capas de vegetación que reducen la temperatura de los techos de las casas capturando la radiación solar y el agua de lluvia, disminuyendo el uso de energía, aumentando el ahorro económico. En México el desarrollo de esta tecnología se ha examinado poco y en particular en el estado de Quintana Roo, es pertinente su implementación debido al clima de la región, donde la lluvia y la radiación solar son elevados y ahora van en aumento, así como el aprovechamiento de los espacios como las azoteas de las nuevas viviendas construidas debido al crecimiento poblacional.

Palabras clave: Cambio climático, calentamiento global, azoteas verdes.

Abstract

The accelerated climate change, caused by demographic growth, directly influenced by human activity, is evident for generated effects in environment causing then, more necessities. It is pertinent to try to stop and repair the generated effects. An options to counteract one of its effects is building residential complex in a "sustainable homes" concept, related this notion, is presented in this document, the topic like an alternative to the climate change, the green roof development. These are elaborated ecosystems with vegetation layers that reduces the home roof temperature capturing the solar radiation and rain wáter, diminishing the energy consumptio and incresing the economic optimization. In Mexico the development of these technology it has been few examined and specifically in Quintana Roo State, its implementation is pertinent due to climate zone, where the rain and solar radiation are high and they are increasing, and the use of the spaces like green roofs of new built homes due to population density rise.

Key words: Climate change, global warming, green roof.

Introducción

Crecimiento poblacional y su influencia en el cambio climático

El cambio climático se define como un proceso normal en nuestro planeta, el cual ahora es una problemática debido al incremento acelerado de la acumulación en la atmósfera de gases de efecto invernadero (GEI), emitidos por la actividad humana. Recientes descubrimientos científicos muestran cómo el cambio climático se está produciendo de forma mucho más acelerada de lo previsto por los expertos de Naciones Unidas (ONU) en el Cuarto Informe de Evaluación sobre el cambio climático 2007 incluyendo a México, pues su situación geográfica, las condiciones climáticas, orográficas e hidrológicas y otros factores, contribuyen a que el país sea una de las zonas más vulnerables del mundo por el cambio climático. La raíz del calentamiento global es la sobrepoblación debido a que la humanidad se cuadruplicó en tan solo un siglo por lo que es evidente que la degradación del medioambiente es una tendencia que tiene impacto en los individuos, la educación y en la sociedad en general (*Días, 2012*).

El Programa de la Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), en su informe de Desarrollo Humano (2007-2008) estableció que el cambio climático es el problema que determina el desarrollo humano en nuestra generación, los modelos climáticos actuales predicen un calentamiento mundial de cerca de 1.4-5.8 grados Celsius entre 1990 y 2100, proyecciones que se basan en un conjunto de hipótesis acerca de las principales fuerzas que dirigen las emisiones futuras; tales como el crecimiento poblacional y el cambio tecnológico. Un factor importante lo constituye el crecimiento demográfico en las zonas urbanas, lo cual trae como consecuencia un aumento de la demanda de vivienda, transporte, agua, energía etc., e incrementa la cantidad de basura. Dicho incremento demanda la construcción de fraccionamientos, edificios departamentales, conjuntos habitacionales, casas independientes, al igual que centros comerciales, escuelas, hospitales, infraestructura carretera, etc., por tanto, se incrementa el uso del automóvil, el consumo de combustible, de agua potable y energía, asimismo, aumenta la cantidad de desechos domésticos y comerciales (*Arias, 2017*).

Viviendas sustentables

La tendencia actual del desarrollo de vivienda sustentable en México, dirigido por La Comisión Nacional de Vivienda en México (CONAVI) y la

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), implementando Acciones de Mitigación Nacionalmente Apropriadas (NAMA), han abordado la eficiencia energética con base en el “desempeño integral de la vivienda”, dichas acciones, son necesarias frente al panorama del crecimiento demográfico, en el 2050, México contará aproximadamente con 121 millones de habitantes, y tendrá cerca de 40 millones de viviendas (construyéndose cerca de 11 millones de casas nuevas entre hoy y el 2030) y 9 millones de casas adicionales requerirán de remodelación parcial o total durante el mismo período. En el estado de Quintana Roo, en los últimos 5 años se construyeron 52 mil viviendas de interés social, además, las viviendas son las responsables de aproximadamente un 7% de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), representando a nivel nacional 49 MtCO₂ por año (*Lundholm, Et al. 2010*).

La implementación de la actividad de azoteas verdes es una opción para combatir al cambio climático; conservando el calor en invierno y fresco el interior en verano, además 1m² de pasto genera el oxígeno requerido por una persona en todo el año y atrapa 130 gramos de polvo por año (*Lundholm, Et al. 2010; Ahmed, Et al. 2014*). Dicha actividad, surgió como un techo de una vivienda que está parcial o totalmente cubierto de vegetación, ya sea en suelo o en un medio de cultivo apropiado (*Lundholm, Et al. 2010*). Los “techos verdes” tuvieron sus inicios en los países escandinavos y la tendencia moderna comenzó cuando Alemania desarrolló los primeros en la década de 1960 (10% de los techos en Alemania son verdes) y ahora se han difundido a muchos países como Estados Unidos, Suiza, Holanda, Hungría, Suecia y en Reino Unido (*Lundholm, Et al. 2010; Kaluza, Et al. 2016*).

Estructura de los techos verdes

Existen principalmente 6 capas que lo componen (figura 1; de arriba hacia abajo):

- 1) Capa vegetal (plantas, pastos y flores).
- 2) Material para crecimiento de las plantas (mezcla nutritiva de tierra de vivero y otros compuestos orgánicos).
- 3) Capa o tela de filtración (contiene a la tierra y a las raíces, pero permite el paso del agua para drenar).
- 4) Capa de drenado y captación de agua pluvial (compuesta por arenas u otros materiales que permiten el paso del agua, pero no de otros

compuestos sólidos, y la almacenan o canalizan).

5) Barrera de raíces.

6) Membrana impermeable (detiene el paso de agua y humedades a la azotea).

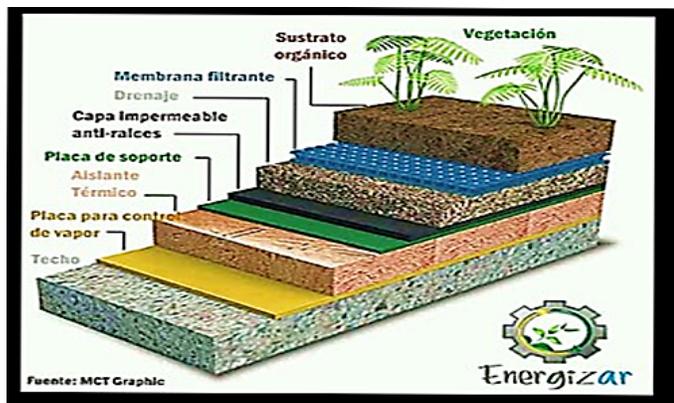


Figura 1. Sistema multi-capa para la fabricación de techos verdes (modificado de MCT Graphic).

Discusión

Considerando que uno de los factores que influyen en la aceleración del cambio climático es el aumento poblacional en algunas ciudades, donde la población se concentra debido al crecimiento económico. Un ejemplo de ello es el Estado de Quintana Roo, México; dicha actividad, conlleva a un aumento en la demanda de viviendas para la población en zonas urbanas. Para satisfacer dichas demandas, se han construido viviendas en varias ciudades como Cancún, las cuales se han expandido y los límites de estas, continúan expandiéndose, generando un impacto ecológico grave con la deforestación de una gran cantidad de especies vegetales; aunado a que las políticas de construcción les permiten a las empresas constructoras, cumplir con un área mínima de áreas verdes la cual es desproporcionada cuando se compara con todo el territorio deforestado. De acuerdo con las iniciativas, en México ante el cambio climático, es la implementación de viviendas sustentables apegados a los criterios urbanos sustentables por Arias Orozco, 2013. Enfatizando en el impacto ambiental, se especifica que es necesario normar las acciones en las distintas etapas de la construcción de asentamientos humanos para la protección ambiental del entorno y en cuanto al énfasis económico es disminuir los costos de habitabilidad de las viviendas con el ahorro de energía eléctrica y consumo de agua potable. Es por ello, que es de suma importancia la generación de conocimiento básico para el desarrollo de iniciativas con el establecimiento de proyectos

sociales para la implementación de soluciones que atiendan los puntos previamente mencionados. Una de las iniciativas propuestas son las azoteas verdes, las cuales tienen un impacto ambiental y social benéfico (Kaluza, Et al. 2016), pues como se ha visto en grandes ciudades, reducen el efecto de isla de calor y como consecuencia, la reducción de inundaciones en zonas tropicales, repercutiendo en la disminución de gastos en servicios como impermeabilización, calefacción y aire acondicionado. Estos trabajos exigen realización de investigación científica y desarrollo tecnológico para implementar y establecer ecosistemas funcionales en azoteas para hacerlas verdes y ser así, capaces de hacer funcionales varios mecanismos de sustentabilidad (Ahmed, Et al. 2010; Ahmed, Et al. 2014).

Conclusión

El panorama del cambio climático y el calentamiento global ha llevado a proponer y desarrollar alternativas de solución en parte mejorando la cultura ambiental y por otro con la generación de viviendas sustentables.

Literatura citada

Ahmed W, Brandes H, Gyawali P, Sidhu JP, Toze S. (2014) Opportunistic pathogens in roof-captured rainwater samples, determined using quantitative PCR. *Water Res.* Apr 15;53: 361-9. doi: 10.1016/j.watres.2013.12.021.

Ahmed W, Vieritz A, Goonetilleke A, Gardner T. (2010) Health risk from the use of roof-harvested rainwater in Southeast Queensland, Australia, as potable or nonpotable water, determined using quantitative microbial risk assessment. *Appl Environ Microbiol.* Nov;76(22):7382-91. doi: 10.1128/AEM.00944-10.

Arias Gómez ML., Arias Gómez E., Arias Gómez J. y Ortiz Molina MM. (2017): "La interrelación entre cambio climático, demografía y vivienda sustentable y su influencia en el medio ambiente", *Revista DELOS: Desarrollo Local Sostenible*, n. 29. Disponible en: <http://www.eumed.net/rev/delos/29/cambio-climatico-demografia.html> y <http://hdl.handle.net/20.500.11763/delos29cambio-climatico-demografia>

Arias Orozco, S. Á. R., David Carlos. (2013). Criterios urbanos sustentables en la periferia urbana de Guadalajara, México. *Territorios.* Universidad del Rosario, Bogotá Colombia., pp. 41-77

Díaz Cordero G. (2012) The climate change. Science and Society, XXXVII (abril-junio). Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=8702417900>. [30.09.2018]. ISSN 0378-7680

European Federation of Green Roof Associations. Disponible en: <http://www.efb-greenroof.eu>. [30.09.2018].

Kaluza BF, Wallace H, Heard TA, Klein AM, Leonhardt SD. (2016) Urban gardens promote bee foraging over natural habitats and plantations. Ecol Evol. Jan 28;6(5):1304-16. doi: 10.1002/ece3.1941.

Lundholm J, MacIvor JS, MacDougall Z, Ranalli M (2010) Plant Species and Functional Group Combinations Affect Green Roof Ecosystem Functions. PLoS ONE 5(3): e9677. doi: 10.1371/journal.pone.0009677.

NAMA Apoyada para la Vivienda Sustentable en México - Acciones de Mitigación y Paquetes Financieros. Disponible en: <http://www.conavi.gob.mx/viviendasustentable>. [19.07.2018].

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, Oficina Regional para América Latina y el Caribe, Foro de ministros de medio ambiente de América Latina y el Caribe, Declaración de Santo Domingo. Disponible en <http://www.pnuma.org/XVIForoAmbiente/stoDomingo>. [30.09.2018].

Kafirinas: clasificación, métodos de extracción y su potencial aplicación como cosmeceútico

¹Castro-Jácome, T.P., ²Alcántara-Quintana, L.E., ³Tovar-Pérez, E.G.

¹ Instituto Tecnológico de Tepic. Av. Tecnológico No. 2595, Col. Lagos del Country, 63175, Tepic, Nayarit, México.

² Facultad de Enfermería y Nutrición, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Niño Artillero No. 130, Zona Universitaria, 78240, S.L.P., México.

³ Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro. Carretera Chichimequillas s/n, El Marqués, Querétaro, México.

*Email: luz.alcantara@uaslp.mx

Resumen

El estudio de las principales proteínas del grano de sorgo (kafirinas) ha aumentado recientemente debido a que el sorgo puede cultivarse en zonas semiáridas por su alta resistencia a sequías y condiciones extremas. Aunado a esto las kafirinas (KAF) se consideran seguras para las personas con enfermedad celíaca y son reconocidas como hipoalergénicas. Se han utilizado diversos métodos para su extracción (métodos ácidos, alcalinos, entre otros), con la final de obtener estas proteínas con el mayor grado de pureza y poder ser aplicadas en la industria de los alimentos. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que las KAF podrían ser consideradas como materia prima para el diseño de productos cosmeceúticos (para el cuidado de la piel), este es atribuido a su actividad antioxidante al producir péptidos bioactivos por hidrólisis enzimática y por observar efectos antiinflamatorios utilizando la fracción completa de KAF. Teniendo como finalidad en esta revisión realizar una comparación entre las distintas fracciones de KAF, los métodos de extracción y el uso potencial de las KAF en beneficio de la salud de la piel.

Palabras claves: kafirinas, sorgo, piel, cosmeceútico

Abstract

The study of the main sorghum grain proteins (kafirins) has recently increased because sorghum can be cultivated in semi-arid zones due to its high resistance to droughts and extreme conditions. In addition to this, kafirins (KAF) are considered safe for people with celiac disease and are recognized as hypoallergenic. Various methods have been used for their extraction (acidic, alkaline methods, and others), with the end of obtaining these proteins with the highest degree of purity and being able to be applied in the food industry. However, several studies have shown that KAF could be considered as a raw material for the design of cosmeceutical products (for skin care), attributed to its antioxidant activity by producing bioactive peptides by enzymatic hydrolysis, also by observing anti-inflammatory effects using the complete fraction of KAF. With the purpose of this review to make a comparison between the different fractions of KAF, their extraction methods and the potential use of KAF for the benefit of skin health.

Keywords: kafirins, sorghum, skin, cosmeceutical

Introducción

El sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) es un cereal que ocupa el quinto lugar en producción a nivel mundial, pudiendo ser cultivado ampliamente en regiones semiáridas y tropicales, resistente a sequías y condiciones de alta salinidad (Labuschagne, 2018). Por lo que es un alimento básico y de gran importancia en países como África y Asia. Aunado a esto, es seguro para pacientes celíacos pudiendo sustituir a las harinas de trigo por harinas de sorgo de variedades blancas (Perla 101, RB Paloma, Costeño 201, entre otros), debido a su sabor neutro. Por lo tanto, la utilización de sorgo es importante desde el punto de vista económico y puede garantizar la seguridad alimentaria en varios países del mundo. Este cereal contiene entre 6 a 12% de proteína cruda dependiendo de la variedad y/o el cultivar (Vannalli *et al.*, 2008; Laszity, 1996). Las proteínas del grano de sorgo pueden clasificarse en prolaminas y no prolaminas. El nombre de kafirinas es utilizado para identificar a las prolaminas del grano de sorgo, el cuál es conocido en África como "kafir" (Shewry & Tatham, 1990). Las kafirinas (KAF) son las principales proteínas de almacenamiento en el grano de sorgo y representan entre el 77-82 % de la proteína total en el endospermo. Estas proteínas son clasificadas como la fracción de prolaminas, se caracterizan por ser solubles en solventes no polares (principalmente en soluciones alcohólicas) y por su alto contenido de prolina, glutamina, alanina y leucina (Shewry & Tatham, 1990). El nombre de prolamina fue acuñado por Osborne (1924), debido al alto contenido de prolina y glutamina, ambos residuos de aminoácidos

constituyen cerca del 30 % del total de residuos en la fracción de kafirinas. Por su parte, la fracción de no-prolaminas está constituida por albúminas, globulinas y glutelinas, siendo solubles en soluciones acuosas, salinas y ácido-básicas, respectivamente, las cuales representan aproximadamente el 30% de la proteína total (Belton *et al.*, 2006). Sin embargo, la cocción de este cereal, sobre todo en húmedo, reduce la digestibilidad de las proteínas, en particular de las kafirinas. Rodrigues de Sousa *et al.*, (2018), utilizaron la harina de sorgo como fuente de alimentación en un modelo murino, observando reducción de peso, además disminución de la lipogénesis en las células hepáticas, sin embargo, sus efectos fueron atribuidos a compuestos bioactivos como los taninos y su alto contenido en fibra. Siendo un desafío el encontrar procesos para lograr aprovechar mejor el grano de sorgo, en especial a las principales proteínas de almacenamiento (KAF), aumentando su digestibilidad y que puedan ser empleadas como ingredientes alimenticios o como una fuente potencial de compuestos bioactivos que beneficien a la salud humana, en particular contra el estrés oxidativo. Por lo que el objetivo de esta revisión fue realizar una comparación entre las fracciones de KAF, los diferentes métodos de extracción y el uso potencial de las KAF en beneficio de la piel.

Clasificación de las kafirinas y su digestibilidad

Actualmente se sabe que las proteínas de la fracción de prolaminas del maíz (zeínas), tiene alta similitud con las KAF del sorgo. Lo que ha proporcionado un marco para el análisis de las KAF para determinar

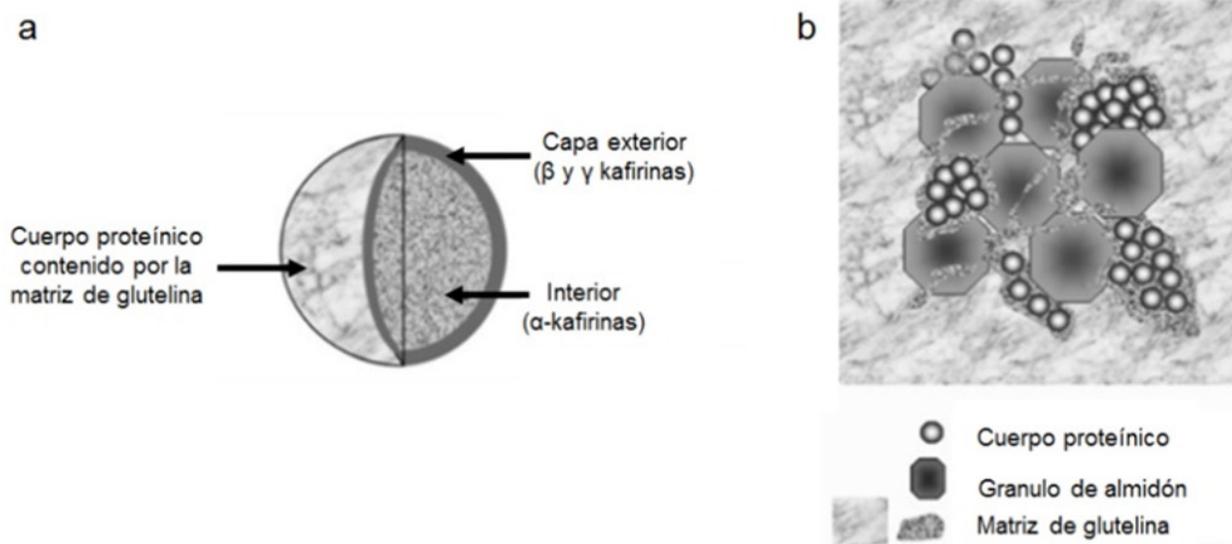


Figura 1. Representación de (a) cuerpos proteínicos esféricos y (b) su relación con gránulos de almidón y matriz de glutelina en el grano de sorgo (Mesa–Stonestreet *et al.*, 2010).

Tabla 1. Grupos de kafirinas del grano de sorgo

Tipo de kafirina	Peso molecular (kDa)	Residuos de aminoácidos	Distribución (%)
α	23 – 27	240 – 250	66 – 84
β	18	172	8 – 13
γ	20	193	9 – 21
δ	13	114	No determinado

Fuente: Lasztity, 1996; Belton *et al.*, 2006.

sus propiedades únicas. La microestructura de KAF se ha estudiado utilizando microscopía electrónica de transmisión y microscopía confocal de barrido. Estos estudios han demostrado que las KAF están localizadas principalmente en cuerpos proteínicos esféricos, los cuales están incrustados dentro de la matriz de glutelina y distribuidos alrededor de los gránulos de almidón, tal como se muestra en la Figura 1 (Duodu *et al.*, 2002; Elkhalfa *et al.*, 2007; Choi *et al.*, 2008; Labuschagne, 2018). Las kafirinas son clasificadas en diferentes grupos con base a su estructura, solubilidad, peso molecular y composición de aminoácidos en 4 grupos: α , β , γ , δ (Belton *et al.*, 2006). En la Tabla 1, se describen las propiedades y distribución porcentual de cada grupo (Lasztity, 1996; Belton *et al.*, 2006). Estos grupos forman estructuras proteínicas con un diámetro de 0.4 a 2 μm con una “capa” exterior que se compone principalmente de β y γ -KAF entrecruzadas y un interior por α -KAF (Duodu *et al.*, 2003; Mesa-Stonestreet *et al.*, 2010; Labuschagne, 2018).

Las α -KAF representan entre el 80–84 % de la fracción total de KAF en el endospermo vítreo y del 66 – 71 % en endospermo opaco. Se caracterizan por no estar extensivamente entrecruzadas y por formar principalmente enlaces disulfuro intramoleculares. En los perfiles electroforéticos se identifican con una masa molecular entre 26–27 KDa con un número de aminoácidos (aa) presentes de 240–250. Esta fracción de KAF es rica en aa no polares como alanina (Ala), leucina (Leu), prolina (Pro). Por su parte, las β y γ -KAF forman enlaces disulfuro inter e intramoleculares y están altamente entrecruzadas. La fracción de β -KAF representa entre el 7–8 % del total de kafirinas en el endospermo vítreo y del 10–13 % en el endospermo opaco. Este grupo se ha identificado en perfiles electroforéticos (SDS-PAGE) entre 15–18 KDa, contando con alrededor de 172 aa, siendo los principales aa reportados metionina

(Met) y cisteína (Cys). De las γ -KAF se encuentran reportadas 2 secuencias, ambas corresponden a proteínas maduras de aproximadamente 20 kDa con una homología del 99% a las γ -zeínas procedentes del maíz, con la diferencia de que la secuencia Pro-Pro-Pro-Val-His-Leu se repite 4 veces. Es a esta secuencia y su repetición que se le puede atribuir su alta hidrofobicidad, siendo esta fracción de prolaminas la más hidrófoba en los cereales de sorgo y maíz (Belton *et al.* 2006). Finalmente, dos secuencias de la fracción de δ -KAF se tienen reportadas, mostrando alta homología con δ -zeína con un peso molecular de 13 KDa, predominando el aa metionina (Met). En general, las KAF son ricas en ácido glutámico y aminoácidos no polares [prolina (Pro), leucina (Leu) y alanina (Ala)], y presentan bajo contenido del aminoácido esencial lisina (Lys) (Mesa-Stonestreet *et al.*, 2010).

Distintos estudios han demostrado que las KAF contribuyen en la disminución de la digestibilidad, la cual es afectada por factores exógenos como las interacciones con componentes no proteínicos (taninos, polifenoles, fitatos, lípidos, almidón y compuestos de la pared celular) y factores exógenos como son entrecruzamiento de KAF, formación de enlaces disulfuro, distribución de las KAF dentro de los cuerpos proteínicos y su alta hidrofobicidad (Duodu *et al.*, 2003; Wong *et al.*, 2009; Pranoto *et al.*, 2013). Debido a la baja calidad proteínica del grano de sorgo, diversos estudios para atender esta problemática se han realizado, utilizando la aplicación de métodos químicos (uso de agentes reductores), procesos biotecnológicos (fermentación e hidrólisis enzimática) y termo-mecánicos (irradiación y extrusión); así como mejoramiento genético (Mesa-Stonestreet *et al.*, 2010; Chiquito-Almanza *et al.*, 2011). Con estos métodos se ha logrado un aumento del 6–25% de la digestibilidad de la proteína y se han logrado obtener líneas

con alto contenido de lisina. El aumento de la digestibilidad se ha atribuido a la degradación del complejo proteínico produciendo pequeñas subunidades de prolaminas y glutelinas siendo más accesibles en el proceso de la digestión (Pranoto *et al.*, 2013). Mediante el uso de los procesos anteriormente mencionados, las propiedades funcionales como solubilidad, espumado y emulsificación aumentaron entre 7 - 9% (Mesa-Stonestreet *et al.*, 2010).

El sorgo en los alimentos

De manera tradicional en África, es común el uso del grano de sorgo para la preparación de papillas, siendo el principal producto a base de este cereal en este país. Esto se prepara cocinando harina de sorgo con agua, variando el contenido sólido de entre un 10% para obtener una papilla fina, hasta el 30% para producir una papilla dura con una consistencia similar al puré de papa. Sin embargo, la cocción húmeda reduce sustancialmente la digestibilidad de las proteínas presentes (Taylor *et al.*, 2006; Shober & Bean, 2008). Por lo que al acidificar la preparación a pH menor o igual a 4.0 mediante fermentación con ácido láctico este efecto puede verse reducido, además que mejora la digestibilidad del almidón y aumenta la biodisponibilidad de vitamina B. En el norte de África y la India, la harina de sorgo se usa ampliamente para hacer panes planos. Cabe señalar que estos productos tradicionales hechos de harina de sorgo se fabrican casi exclusivamente en el hogar, y que generalmente el sorgo utilizado para producir esta harina es de cosecha propia. Por lo tanto, las opciones para la fortificación de la harina son limitadas. Una excepción es el polvo de sorgo acidificado, llamado Morvite, que se fabrica comercialmente en Sudáfrica. El producto está fortificado con una gama de minerales y vitaminas para que una porción de harina de 100 g cumpla generalmente entre el 15% y el 25% de la cantidad diaria recomendada en micronutrientes para adultos (Taylor *et al.*, 2006; Shober & Bean, 2008; Chiremba *et al.*, 2009).

En la actualidad existe la necesidad de encontrar alternativas al uso del trigo para la fabricación de productos como pan, pasteles y galletas. Debido a que el sorgo es considerado seguro para celíacos, la producción de productos de la panificación a base de sorgo se está generalizando. La tecnología de molienda de sorgo debe mejorarse en términos de eficiencia de molienda, calidad funcional de la harina y retención de micronutrientes y fitoquímicos. Para lograr esto, es necesario desarrollar aún más la tecnología de molienda de rodillos de

sorgo. Se está haciendo un buen progreso en la investigación en profundidad que permitirá que las proteínas de sorgo, las kafirinas, proporcionen masa con viscoelasticidad. La biofortificación ya ha proporcionado algún progreso hacia el logro de un cultivo de sorgo nutritivo. Sin embargo, esta tecnología debe desarrollarse aún más para llenar los vacíos en el conocimiento sobre la mejora de la cantidad de aminoácidos esenciales como la lisina, y debe implementarse en países donde el sorgo es un elemento básico importante para mejorar el estado nutricional de la gente de zonas rurales (Taylor *et al.*, 2006; Shober & Bean, 2008).

Métodos de extracción de proteínas

El sorgo se ha incorporado en productos libres de gluten (pastas, pan, galletas y algunos cereales), aunque su uso es aún muy limitado (Hamaker *et al.*, 2008; Gallagher, 2009; Liu, 2009). Por lo tanto, la aceptabilidad del sorgo y sus proteínas (en particular las KAF) como ingredientes alimentarios dependerá no solo de sus características nutricionales, sino también de sus propiedades tecnológicas y biofuncionales (Mesa-Stonestreet *et al.*, 2010). En este sentido, se han establecido diferentes métodos de extracción de las proteínas de este cereal con la finalidad de poder darles una aplicación en la industria de los alimentos y como compuestos con actividad biológica.

Extracción tradicional

Las proteínas de sorgo tradicionalmente han sido extraídas y clasificadas según el procedimiento de Osborne (1907). Este método de clasificación divide las proteínas en albúminas solubles en agua, globulinas solubles en sal, prolaminas solubles en alcohol y glutelinas solubles en ácido o base (Hamaker *et al.*, 1995; Wrigley & Bekes, 2001). Este método, sin embargo, no separa las fracciones de proteínas de forma limpia y generalmente produce una superposición significativa entre las fracciones (Mesa-Stonestreet, 2010). Se han utilizado muchas variantes de este método para extraer proteínas de sorgo. El método de Landry-Moureaux posteriormente dividió las prolaminas en aquellas extraíbles en alcohol acuoso puro y aquellas extraíbles en alcohol acuoso más un agente reductor. En este procedimiento, la extracción secuencial da como resultado las siguientes fracciones de proteínas: albúminas y globulinas extraídas con solución de NaCl (fracción I); kafirina-1 extraída con 60% de t-butanol (fracción II); kafirina-2 (también llamada kafirina reticulada) extraída con 60% de

t-butanol con 2-mercaptoetanol (2-ME) (fracción III); proteínas de tipo glutelina extraídas con tampón de borato alcalino con 2-ME (fracción IV); glutelinas verdaderas extraídas con borato alcalino y dodecil sulfato de sodio (SDS) (fracción V); y, proteínas no extraíbles determinadas por el análisis del contenido de proteínas del residuo. Aunque el método de Landry-Moureaux ajustó el procedimiento de Osborne, todavía se requiere de mayores estudios de las fracciones individuales para conocer la funcionalidad de las proteínas del sorgo de manera individual.

Extracción alcalina

Wu en 1978, obtuvo proteínas de sorgo entero molido utilizando un proceso de extracción alcalina. La extracción se llevó a cabo preparando una suspensión con 150 g de sorgo y 900 ml de solución de hidróxido de sodio de 0.1 a 0.15 N, pH 11.8 a 11.9. La suspensión se centrifugó y el sobrenadante se recolectó y se ajustó a pH ácido de 4.8 para precipitar las proteínas. El concentrado de proteínas en forma de precipitado se liofilizó. Los concentrados tenían contenidos de proteína que variaban del 48% al 60%, dependiendo de la variedad de grano. Las solubilidades de los concentrados fueron del 90% a un rango de pH de 8.7 a 10.8; 15% a 22% a pH 2.1; y, fueron insolubles entre pH 3.5 y 5.8. Los autores de este estudio no identificaron los tipos de proteínas extraídas. Sin embargo, a juzgar por la cantidad de proteína extraída, algunas kafirinas pueden haberse solubilizado mediante este proceso. Suponiendo que la mayor parte de la proteína era albúmina / globulina y glutelinas, entre el 5% y el 15% de la proteína extraída puede haber sido kafirina. Además, no se observó si se produjo alguna modificación en las proteínas debido al pH extremo utilizado en el proceso de extracción. Por lo que este método, por la información encontrada, no es óptimo para la extracción de kafirinas puras.

Separación de no prolaminas y prolaminas

Hamaker *et al.* (1995) utilizaron un procedimiento que se aplicó por primera vez para extraer proteínas de maíz que diferenciaban las no prolaminas (o no kafirinas) de las prolaminas (o kafirinas). En este método, las muestras de harina se extrajeron primero con cloruro de sodio para eliminar las albúminas, las globulinas y el nitrógeno no proteico contenido en el sobrenadante. Los sedimentos resultantes se extrajeron luego con borato de sodio, un detergente (SDS) y 2-ME a pH 10, con una relación de harina-disolvente de 1:10. Después de una extracción de

1 h, la suspensión se centrifugó y luego a 60°C se añadió t-butanol al sobrenadante para precipitar las no kafirinas extraíbles con detergente. Después de reposar durante 2 h con agitación ocasional, la mezcla se centrifugó y luego el sobrenadante, que contenía KAF, se separó del sedimento. Este procedimiento permitió obtener las KAF en un solo grupo y facilitó una mayor identificación de los diferentes tipos de KAF. Sin embargo, estas proteínas se extrajeron principalmente con fines de caracterización, y no para uso alimentario. Siguiendo el procedimiento mencionado anteriormente, Park & Bean (2003) investigaron los factores que afectan la extracción de proteína de sorgo y luego optimizaron estas condiciones para reducir el tiempo de extracción. Sus estudios revelaron que el pH, el tipo de detergente, el tipo de agente reductor y la proporción de disolventes de muestra afectan significativamente la extracción de proteínas. De pH 2.5 a 10, la cantidad de proteína extraída por SDS aumentó al aumentar el pH. SDS, un detergente aniónico, fue sumamente superior al detergente catiónico bromuro de dodecilamonio. La concentración de SDS del 2% extrajo la mayor cantidad de proteína, sin aumentos adicionales en la extracción en concentraciones más altas. La β -ME al 2% extrajo más proteínas que el ditiotreitól o el clorhidrato de tris (2-carboxietil) fosfina. En contraste con la proporción de 1: 10 de harina-solvente utilizada por Hamaker *et al.*, (1995), Park & Bean (2003) encontraron que la proporción óptima era de 1: 20. Además, al agrupar los extractos de proteínas de tres de 5 minutos las extracciones de Park & Bean (2003) acortaron el tiempo total de extracción de 1 hora a 21 minutos, mientras obtenían la misma cantidad de proteína. También determinaron que las mismas no KAF se precipitaron con 60% de t-butanol, 60% de 1-propanol y 70% de etanol. Por lo tanto, estos disolventes pueden ser intercambiados. Además, se puede usar acetona para precipitar KAF.

Extracción con ácido acético glacial

Taylor *et al.*, (2005) desarrollaron un método de extracción de KAF utilizando ácido acético glacial porque los procedimientos existentes plantean problemas para la industria alimentaria. Por ejemplo, señalaron que el t-butanol es tóxico y que el etanol acuoso no es aceptable para ciertas religiones. Los investigadores plantearon la hipótesis de que la baja constante dieléctrica del ácido acético glacial (6.1) le permite disolver proteínas altamente hidrofóbicas como las KAF. La constante dieléctrica de un solvente es inversamente proporcional al grado de interacción que ocurre entre 2 partículas cargadas en solución.

Como el ácido acético glacial tiene una constante dieléctrica baja, las proteínas tienden a desplegarse y los grupos hidrófobos interactúan con el disolvente con la misma facilidad con que lo hacen entre sí. En este estudio, se compararon los solventes acuosos de alcohol (70% de etanol a 70° C), con metabisulfito de sodio e hidróxido de sodio, en comparación con los solventes que contienen ácido acético glacial con y sin metabisulfito de sodio a 25° C. Encontrando que el tratamiento con metabisulfito de sodio fue necesario para obtener la pureza deseada en ambos procesos, ya que la extracción sola por ejemplo, con ácido acético glacial solo tuvo un rendimiento y una pureza de KAF pobres. En el método del ácido acético, el sorgo se empapó previamente en metabisulfito de sodio durante 16 h antes de la extracción con ácido acético glacial. La proteína resultante se desengrasó con éter de petróleo. En el método ácido-etanol, se pusieron en contacto el grano de sorgo desgrasado con etanol al 70%, se ajustó el pH a 2 usando HCl y luego se agregó sulfito de sodio. Después de agitar continuamente durante 2 horas a 78° C, la mezcla se centrifugó y el sobrenadante se recogió y se deshidrató mediante un evaporador rotatorio. Se realizó un segundo procedimiento de desengrase. En el método alcalino-etanol se mezclaron el sorgo con etanol al 70%, NaOH al 0.35% y metabisulfito de sodio al 0.5%, y luego se agitó durante 1 hora a 70° C. A continuación, la mezcla se centrifugó, luego el sobrenadante se diluyó con agua destilada hasta etanol al 40%. Esta suspensión se mantuvo a -20°C durante la noche para promover la precipitación y luego se centrifugó. El sedimento se enjuagó con agua destilada, se secó a 49° C durante la noche y luego se desengrasó. El análisis del contenido de proteína mostró que los procedimientos de extracción con ácido acético y etanol alcalino dieron mayores rendimientos y pureza que el método ácido-etanol. Las tasas de extracción y los contenidos de proteína obtenidos fueron 44.1% y 98.94%, respectivamente, para la extracción con ácido acético; 24.2% y 42.32%, respectivamente, para extracción ácida-etanol; y, 56.8% y 94.88%, respectivamente, para la extracción de etanol alcalino. Wang *et al.*, (2009) supusieron que el etanol ácido no era lo suficientemente fuerte como para disolver proteínas desnaturalizadas y que la extensión de la ruptura del enlace disulfuro disminuye a un pH bajo. Además, la preparación previa con un agente reductor en el procedimiento de ácido acético glacial llevó a un mayor porcentaje de extracción. Utilizando los métodos con mayor rendimiento y grado alimentario, las KAF pueden ser utilizadas para ser incorporadas, ya sea la proteína completa o en fracciones en productos que benefician

a la salud humana, como alimentos funcionales y/o nutracéuticos.

Kafirinas y su potencial aplicación como cosmecéutico

Se ha reportado que el uso biológico de una proteína depende en gran medida a su digestibilidad. Aunado a esto, se sabe que las proteínas de almacenamiento de semillas contienen fragmentos bioactivos (Megías *et al.*, 2008; Soares de Castro & Sato, 2015), que pueden ser liberados por enzimas proteolíticas. Estos fragmentos han sido aislados mediante la aplicación de diferentes métodos de extracción para obtener la proteína completa seguido del empleo de enzimas proteolíticas (pepsina, pancreatina, quimitripsina, alcalasa, entre otras), generando hidrolizados enzimáticos de proteínas (Megías *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2014; Soares de Castro & Sato, 2015). Así pues, durante las últimas décadas, numerosas investigaciones han reconocido distintos efectos en la salud (opioide, antihipertensivo, antioxidante, hipocolesterolémico, inmunomodulador, anticoagulante, entre otros) atribuidos a fragmentos específicos de las proteínas llamados péptidos bioactivos o biopéptidos producidos por hidrólisis enzimática, con capacidad moduladora de procesos fisiológicos (Singh *et al.*, 2014; Alcántara-Quintana *et al.*, 2015). En este sentido, el estrés oxidativo es una de las principales causas que generan una gran variedad de enfermedades humanas, siendo la piel el órgano más expuesto al estrés oxidativo por factores como la mala alimentación, la contaminación ambiental y principalmente por la radiación UV, debido a un desequilibrio entre la producción de radicales libres y el sistema endógeno antioxidante eliminador. Gran parte de lo que sabemos sobre el mecanismo de protección contra el estrés oxidativo es la activación de la respuesta antioxidante a través de la eliminación de radicales libres o la prevención de la generación de radicales libres, que es un objetivo útil para promover la salud (Lorencini *et al.*, 2014).

Las áreas de particular interés que afectan a la salud de la piel incluyen la pérdida de elasticidad, las arrugas, la textura irregular, la pigmentación y la sequedad. Esta problemática ha llevado al desarrollo de cosmecéuticos, que se encuentran entre los cosméticos y los productos farmacéuticos que ofrecen mejorar la salud de la piel (Draeos, 2014; Malerich & Berson, 2014). Los cosmecéuticos son una forma segura y eficaz de mejorar los efectos no deseados del envejecimiento. Hay varios agentes que se pueden aplicar para tratar las arrugas, las líneas finas y la hiperpigmentación. Los cosmecéuticos

ejercen efectos locales, sin absorción sistémica. También son generalmente bien tolerados y no se han observado efectos adversos importantes. Existen muchas opciones diferentes, incluidos los péptidos, los factores de crecimiento, las citoquinas y las células madre, que se han unido al arsenal cosmeceútico (Malerich & Berson, 2014). Los péptidos destacan por ser importantes en muchos procesos naturales relevantes para el cuidado de la piel, como la modulación de las células, proliferación, migración celular, inflamación, angiogénesis, melanogénesis y síntesis y regulación de proteínas. Los mecanismos para tales actividades se basan principalmente en la unión de ligandos, de un tipo u otro, y debido a la inmensa diversidad de secuencias y estructuras que proporcionan las secuencias peptídicas, son posibles una gran cantidad de actividades. Además, los péptidos utilizados consisten principalmente en L-aminoácidos naturales, que en general no son inmunogénicos y se descomponen fácilmente con el tiempo para producir aminoácidos naturales individuales (Zhang & Falla, 2009).

En este sentido los hidrolizados de KAF pueden ser una alternativa viable para la producción de péptidos con actividades benéficas para la salud de la piel. El primer estudio relacionado con la hidrólisis de KAF fue realizado por Kamath *et al.* (2007) realizaron la hidrólisis de α -KAF con quimotripsina para la producción de hidrolizados, los cuales fueron purificados por cromatografía de exclusión molecular (Sephadex G-25), resultando en la obtención de 4 fracciones peptídicas con actividad inhibitoria de la ECA, con valores IC_{50} de 1.3 - 24.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Finalmente, las fracciones de péptidos provenientes de α -KAF presentaron tanto inhibición competitiva como no competitiva. El estudio mencionado logró demostrar que al llevar a cabo la hidrólisis enzimática de prolaminas del grano de sorgo es posible liberar péptidos con actividad antihipertensiva *in vitro*. Con este estudio se dio el parteaguas para la búsqueda de nuevas perspectivas para el uso de las kafirinas. Sullivan *et al.*, (2017), hidrolizaron kafirinas provenientes del grano de sorgo variedad roja con la finalidad de evaluar la actividad antioxidante por métodos *in vitro*, mediante los ensayos de capacidad antioxidante de los radicales de oxígeno (ORAC), el ensayo de captación de radicales de óxido nítrico y la actividad de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). En donde reportan que los hidrolizados son mejores antioxidantes contra radicales que se estabilizan por un enlace simple entre dos átomos de nitrógeno (radical DPPH) y en el proceso de

oxidación retardada (ensayo ORAC). Por su parte, Xu *et al.*, (2019), hidrolizaron KAF utilizando la enzima papaína, obteniendo fracciones por debajo de los 3 kDa, logrando identificar la secuencia de algunos péptidos con alta actividad antioxidante utilizando los ensayos de DPPH, ORAC y la inhibición de la lipoperoxidación (TBARS), este efecto antioxidante lo atribuyen a la presencia de ácido glutámico (Gln), tirosina (Tyr) y de aa hidrofóbicos como Pro, Leu, Ala. Sullivan *et al.*, (2018), reportaron que el uso de kafirinas provoca una reducción de la secreción de citocinas proinflamatorias (IL- β , IL-6 y TNF- α), utilizando como modelo de estudio células de leucemia monocíticas humanas (THP-1), lo que indica que compuestos como las KAF pueden intervenir en la regulación de la inflamación, teniendo beneficios en la salud.

Conclusión

Existen diversos métodos de extracción de las kafirinas, obteniéndose mejores rendimientos con el uso de agentes reductores. Es de gran importancia que el método seleccionado sea grado alimentario para no solo aumentar su uso como una fuente de ingrediente alimentario, sino también ser utilizado en las áreas biomédica y nutracéutica para el diseño de cosmeceúticos, esto asociado con las propiedades potenciales de las kafirinas, como lo son la actividad antioxidante y la actividad anti-inflamatoria, lo cual generaría un beneficio a la salud humana.

Literatura citada

Alcántara-Quintana LE, Ortiz-Hernández A, Rivera M, Soriano, S. The antioxidant activity of peptides isolated from Amaranthus on normal human skin in vitro and inflammatory cytokines detection. *Journal Nutrition and Food Sciences* 2015; 5: 6.

Amer M, Maged M, Pharm BSc. Cosmeceuticals versus pharmaceuticals. *Clinics in Dermatology* 2009; 27: 428 - 430.

Belton PS, Delgadillo I, Halford NG, Shewry PR. Kafirin structure and functionality. *Journal of Cereal Science* 2006; 44(3):272-86.

Belton PS, Delgadillo I, Halford NG, Shewry PR. Review: Kafirin structure and functionality. *Journal of Cereal Science* 2006; 44: 272-286.

- Chiquito-Almanza E, Cobielles-Castrejón G, Montes-García N, Pecina-Quintero V, Anya-López JL. Kafirinas, proteínas clave para conferir digestibilidad y calidad proteica al grano de sorgo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2011; 2: 235-248.
- Chiremba C, Taylor JRN, Duodu KG. Phenolic content, antioxidant activity and consumer acceptability of sorghum cookies. *Cereal Chemistry* 2009; 86:590-594.
- Choi SJ, Woo HD, Ko SH, Moon, TW. Confocal laser scanning microscopy to investigate the effect of cooking and sodium bisulfite on in vivo digestibility of waxy sorghum flour. *Cereal Chemistry* 2008; 85(1): 65-69.
- Draelos ZD. Cosmeceuticals Efficacy and Influence on Skin Tone. *Dermatologic Clinics* 2014; 33: 137-143.
- Duodu KG, Nunes A, Delgadillo I, Parker M, Mills ENC, Belton PS, Taylor JRN. Effect of grain structure and cooking on sorghum and maize in vitro protein digestibility. *Journal of Cereal Science* 2002; 35: 161 - 174.
- Duodu KG, Taylor JRN, Belton PS, Hamaker BR. Factors affecting sorghum protein digestibility. *Journal of Cereal Science* 2003; 38: 117-131.
- Elkhalifa AEO, Bernhardt R, Bonomi F, Iametti S, Pagani MA, Zardi M. Fermentation modifies protein /protein and protein/starch interactions in sorghum dough. *European Food Research Technology* 2006; 222(5-6): 559-564.
- Emmambux MN, Taylor JRN. Sorghum kafirin interaction with various phenolic compounds. *Journal of Science of Food and Agriculture* 2003; 83(5):402-407.
- Gallagher E. *Gluten-free food science and technology*. Ames, Iowa: Blackwell Publishing Ltd., 2009. 256.
- Hamaker BR, Mejia CD, Mauer LJ, Campanella OH, inventors; Purdue Research Foundation, assignee. Leavened products made from non-wheat cereal proteins. 2008 Mar 27. International patent application WO 2008/036646 A1.
- Hamaker BR, Mohamed AA, Habben JE, Huang CP, Larkins BA. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method. *Cereal Chemistry* 1995; 72(6):583-8.
- Labuschagne MT. A review of cereal grain proteomics and its potential for sorghum improvement. *Journal of Cereal Science* 2018; accepted manuscript.
- Lasztity R. Sorghum proteins. In: Lasztity R, editor. *The chemistry of cereal proteins*. 2nd ed. Boca Raton. 1996. 227-48.
- Liu L. Evaluation of four sorghum hybrids in a gluten-free noodle system. [MSc thesis]. Manhattan, Kans.: Kansas State Univ. 2009. 103.
- Lorencini M, Brohem CA, Dieamant GC, Zanchin NIT, Maibach HI. Active ingredients against human epidermal aging. *Ageing Research Reviews* 2014; 15: 100-115.
- Malerich S, Berson, D. Next Generation Cosmeceuticals. *The latest in Peptides, Growth Factors, Cytokines, and Stem Cells. Dermatology Clinic* 2014; 32: 13-21.
- Megías C, Pedroche J, Yust MM, Girón-Calle J, Alaiz M, Millán F. Production of copper-chelating peptides after hydrolysis of sunflower proteins with pepsin and pancreatin. *Food Science and Technology* 2008; 41: 1973-1977.
- Mesa-Stonestreet, NJ, Alavi S, Bean SR. Sorghum Proteins: The Concentration, Isolation, Modification, and Food Applications of Kafirins. *Journal of Food Science* 2010; 75: R90-R103.
- Osborne TB. *The proteins of the wheat kernel*. Washington, D.C.: Carnegie Inst. Of Washington. 1907.
- Park SH, Bean SR. Investigation and optimization of the factors influencing sorghum protein extraction. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 2003; 51(24):7050-4.
- Pranoto Y, Anggrahini S, Efendi Z. Effect of natural and *Lactobacillus plantarum* fermentation on in-vitro protein and starch digestibilities of sorghum flour. *Food Bioscience* 2013; 2: 46-52.
- Rodrigues de Sousa A, de Castro Moreira ME, Lopes-Toledo RC, dos Anjos-Benjamin L, Vieira-Queiroz VA, Paranho-Veloso M, de Souza Reis K, Duarte-Martino HS. Extruded sorghum (*Sorghum bicolor* L.) reduces metabolic risk of hepatic steatosis in obese rats consuming a high fat diet. *Food Research International*, 2018, accepted manuscript.

- Schober TJ, Bean SR. Sorghum and maize. In: Arendt EK, Dal Bello F, editors. *Gluten-free cereal products and beverages*. Burlington: Academic Press; 2008. 101-18.
- Shewry PR, Tatham AS. The prolamin storage proteins of cereal seed: structure and evolution. *Biochemical Journal* 1990; 267(1): 1-12.
- Singh BP, VijS, Hati S. Review: Funcional significance of bioactive peptides derived from soybean. *Peptides* 2014; 54: 171-179.
- Soares de Castro RJ, Sato HH. Biologically active peptides: Processes for their generation, purification and identification and applications as natural additives in the food and pharmaceutical industries. *Food Reesearch International* 2015; 74: 185-198.
- Sullivan AC, Pangloli P, Dia VP. Kafirín from *Sorghum bicolor* inhibition of inflammation in THP-1 human macrophages is associated with reduction of intracelular reactive oxygen species. *Food and Chemical Toxicology* 2018, accepted manuscript.
- Sullivan AC, Pangloli P, Dia VP. Impact of ultrasonication on the physicochemical properties of sorghum kafirin and in vitro pepsine-pancreatin digestibility of sorghum gluten-like flour. *Food Chemistry* 2017, accepted manuscript.
- Taylor J, Taylor JRN, Dutton MF, Kock S. Glacial acetic acid- a novel food-compatible solvent for kafirin extraction. *Cereal Chemistry* 2005; 82(5):485-7.
- Taylor JRN, Schober TJ, Bean SR. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. *Journal of Cereal Science* 2006; 44:252-71.
- Vannalli S, Kasturiba B, Yenagi RKN. Nutritive value and quality characteristics of sorghum genotypes. *Journal of Agricultural Science* 2008; 20: 586-588.
- Wang Y, Tilley M, Bean S, Sun XS, Wang D. Comparison of methods for extracting kafirin proteins from sorghum distillers dried grains with solubles. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 2009; 57(18):8366-72.
- Wong JH, Lau T, Cai N, Singh J, Pedersen JF, Vensel WH, Hurkman EJ, Wilson JD, Lemaux PG, Buchanan BB. Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is liked to biochemical and structural features of grain endosperm. *Journal of Cereal Science* 2009; 49: 73-82.
- Wrigley CW, Bekes F. Cereal-grain proteins. In: Sikorski ZE, editor. *Chemical and functional properties of food proteins*. Lancaster, Pa.: Technomic Publishing Co. Inc. 2001. 373-406.
- Wu YV. Protein concentrate from normal and high-lysine sorghums: preparation, composition and properties. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 1978; 26(2): 305-9.
- Xu S, Shen Y, Xu J, Qi G, Chen G, Wang W, Sun X, Li Y. Antioxidant and anticancer affects in human hepatocarcinoma (HepG2) cells of papain-hydrolyzed sorghum kafirin hydrolystes. *Journal of Functional Foods* 2019; 58: 374-382.
- Zhang L, Falla TJ. Cosmeceuticals and peptides. *Clinical Dermatology* 2009; 27:485-94.

Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos: Una revisión actualizada de un problema antiguo

¹Efraín Ríos-Sánchez, ²Alberto González-Zamora, ¹Edgar Héctor Olivas-Calderón,
³Gerardo Alfonso Anguiano-Vega, ^{1*}Rebeca Pérez-Morales.

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Av. Artículo 123 SN,
Fraccionamiento, Filadelfia, CP 35010, Gómez Palacio, Durango, México

²Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Av. Artículo 123 SN,
Fraccionamiento, Filadelfia, CP 35010, Gómez Palacio, Durango, México

³Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Av. Veterinarias SN,
Circuito Universitario, CP 34120 Durango, Durango, México

*Email: rebecamps@ujed.mx

Resumen

Los problemas de salud relacionados a la contaminación ambiental han incrementado exponencialmente en los últimos años. La exposición a metales pesados, la explotación de la tierra de cultivo, la fertilización excesiva de los campos, así como la dependencia de los combustibles fósiles han aumentado el deterioro ambiental que ha impactado de forma negativa en la salud humana. En esta revisión se describen a los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), su metabolismo, efectos a nivel celular y molecular; también se documentan los hallazgos más recientes de los efectos prenatales, alteraciones endocrinas y reproductivas, modificaciones de las marcas epigenéticas en el DNA, así como el desarrollo de ciertos tipos de cáncer.

Palabras claves: hidrocarburos policíclicos aromáticos, aductos DNA, contaminación ambiental.

Abstract

Health problems related to environmental pollution have increased exponentially in recent years. Exposure to heavy metals, overexploitation of land, overfertilization of fields, as well as dependence on fossil fuels have increased the presence of environmental pollutants and their impact on human health. In this review, polycyclic aromatic hydrocarbons, their metabolism and effects at the cellular and molecular level are described. The most recent findings of prenatal effects, endocrine and reproductive alterations, epigenetic modifications in DNA, as well as the development of certain types of cancer are also documented.

Keywords: aromatic polycyclic hydrocarbons, DNA adducts, environmental contamination.

Introducción

La contaminación del aire es considerada un factor importante en el desarrollo de enfermedades, estimando que es responsable de cerca de 7 millones de muertes por año en el mundo y por lo anterior, ha sido identificado como problema de salud pública que es necesario atender a la brevedad (OMS, 2014). El tabaquismo, las emisiones de motores y la combustión de biomasa genera material particulado (PM), siendo éste el principal contaminante, además del ozono y algunos otros gases derivados del nitrógeno y del azufre, en grandes ciudades del país como la Ciudad de México, Monterrey y Guadalajara. El PM se refiere a las moléculas sólidas suspendidas en el aire que no son gases, sino una mezcla de partículas que se clasifican en función a su tamaño siendo aquellas menores a 10 µm y 2.5 µm las altamente respirables; se componen por carbón elemental y carbono orgánico, en este último el componente principal son los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs).

Los HAPs son un grupo heterogéneo de moléculas hidrofóbicas que son el producto de la combustión incompleta de la materia orgánica, productos de la combustión de los motores, quema de biomasa y actividades industriales. Estos son los contaminantes ambientales más prevalentes a nivel mundial y son reconocidos como agentes mutagénicos, teratogénicos y carcinogénicos para humanos, por lo que tienen un impacto importante a nivel epidemiológico. Sir Percival Pott en 1775 realizó las primeras observaciones poblacionales en individuos que se dedicaban a limpiar chimeneas, asociando la exposición al hollín de las chimeneas con una alta incidencia de cáncer escrotal, ahora se sabe que el hollín tiene una gran cantidad de HAPs (Brown et al., 1957).

El anillo bencénico es la unidad fundamental de los HAPs, éste tiene la característica de ser una molécula muy estable debido a sus dobles enlaces. Los HAPs constan de anillos bencénicos fusionados (de 2 a 7) y entre los más conocidos se encuentran el naftaleno, el antraceno, el fenantreno, el naftaceno, el benzo[a] antraceno, el dibenzo [a,h] antraceno y el benzo[a] pireno (BaP), siendo este último el HAPs más ampliamente estudiado (Kim et al., 2013).

Los HAPs entran a las células por difusión ya que son compuestos altamente liposolubles, una vez dentro de las células se activa la respuesta celular por exposición a xenobióticos, ésta consiste en la unión de los HAPs al receptor de arilos (AhR), una proteína

que, en unión con factores de transcripción inducen la expresión de genes que contienen elementos de respuesta a xenobióticos (XRE). Los genes que activan su transcripción están involucrados en el metabolismo de xenobióticos, el cual consta de 3 fases.

La fase I corresponde a reacciones de óxido-reducción que bioactivan los compuestos a moléculas más reactivas que las iniciales, entre estas enzimas se encuentran los citocromos P450 como CYP1A1, CYP1B1, CYP1A2 y CYP2E1. La fase II corresponde a reacciones de conjugación que produce moléculas más polares capaces de ser excretadas por las heces, por vía biliar o renal, entre estas últimas destacan las enzimas glutatión S-transferasa, glucuronil transferasa y N- acetil transferasa. Finalmente, la fase III involucra a las proteínas MDR (multidrug resistance protein), que son canales específicos que permiten el transporte de las moléculas biotransformadas al exterior de las células, protegiendo así al individuo de los efectos tóxicos de algunos xenobióticos (Moorthy et al., 2015).

En la fase I de bioactivación los metabolitos resultantes interactúan con diversas estructuras celulares como lípidos y proteínas; sin embargo, el recambio de estas biomoléculas es rápido y no representan un daño permanente. Mientras que la interacción de compuestos activos con las bases nitrogenadas del DNA forma los aductos derivados de HAPs (HAP-DNA), que son más estables y en algunos casos son irreversibles por lo que representan un biomarcador confiable de exposición a HAP y un biomarcador de enfermedad. En la Figura 1 se describe el mecanismo de bioactivación del B[a]P y su interacción con las bases del DNA, particularmente con las guaninas; estas alteraciones a nivel de DNA forma productos génicos aberrantes o modificación de la expresión génica que podrían interrumpir los procesos celulares normales. Se ha encontrado evidencia que los aductos en DNA se relacionan con la transformación de células normales a células iniciadas (mutación) potencialmente cancerosas (IARC, 2012).

Existen otras vías por las cuales se metaboliza el BaP donde los citocromos realizan una función similar a la peroxidasa y catalizan la oxidación de un electrón en la posición C6 para producir radicales catiónicos. Estas moléculas tienen una vida media corta que pueden reaccionar con el DNA y causar alteraciones estructurales, y mutaciones. El metabolismo por esta vía conduce a la formación de especies reactivas del oxígeno que pueden ser carcinogénicas (Moorthy et al., 2015).

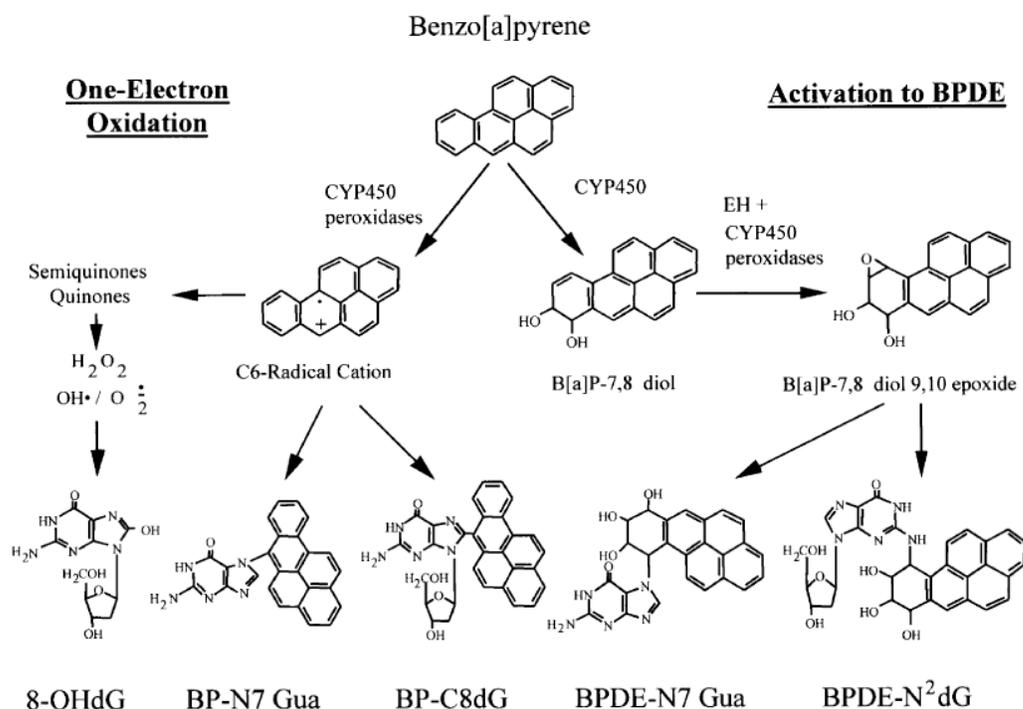


Figura 1. Esquema de inducción de daño en DNA por HAPs generado por múltiples vías metabólicas. Se muestra el ejemplo del BaP en el lado izquierdo se muestra el esquema de oxidación de un electrón mientras que del lado derecho se muestra la oxidación de dos electrones.

El metabolismo de los HAPs genera productos altamente reactivos capaces de unirse covalentemente al DNA y generar aductos. Los aductos se definen como una modificación covalente en cualquier biomolécula (lípidos, proteínas y DNA) o estructura celular (Singhavi et al., 2018). Los aductos en el DNA son considerados como el biomarcador cuantitativo más prometedor ya que toma en cuenta las diferencias individuales de exposición, absorción y distribución de los compuestos, su metabolismo en formas reactivas, capacidad de bioactivación, renovación celular y reparación del DNA dañado. Por estas razones se le considera un biomarcador de exposición, de dosis interna y dosis biológicamente efectiva, es decir, indica la exposición a cancerígenos, indica la cantidad a la cual se expuso el organismo e indica una exposición suficiente para sobrepasar las barreras de biotransformación y reparación. No obstante, su capacidad para predecir el desarrollo del cáncer aún es incierta (Vegalia et al., 2008).

La reparación de los aductos varía dependiendo de la capacidad de reparación celular y del tejido en el que se analice el biomarcador, aunque en células sanguíneas pueden ser reparados relativamente rápido (meses), mientras que en otros órganos como en pulmón el daño puede mantenerse durante mucho tiempo (varios años). De la misma forma hay órganos más susceptibles a formar aductos que

otros; este fenómeno se ha observado en diversos estudios, donde al administrar agentes genotóxicos por diferentes vías como intravenosa, intraperitoneal, intratraqueal, oral o dérmica, donde el órgano más afectado siempre es el pulmón, comparado con células sanguíneas e incluso células hepáticas, lo que sugiere que el pulmón es el órgano más susceptible al daño genotóxico ocasionado por HAPs (Godschalk et al., 2000; Marie-Desvergne et al., 2010; Moreau et al., 2015). Se ha sugerido que el metabolismo de fase I es eficiente en pulmón e hígado (bioactivación); sin embargo, el metabolismo de fase II podría ser limitado en pulmón (conjugación), lo que se ha evidenciado por la cantidad de dioles epóxidos libres derivados de BaP en mayor concentración en pulmón que en hígado (Molliere et al., 1987, Marie-Desvergne et al., 2010).

HAPs, generación de aductos y su efecto sobre los procesos epigenéticos

Los mecanismos de expresión génica son procesos finamente regulados a través de diversas estrategias que involucran la participación de factores de transcripción, feedback negativo, micro RNAs y procesos de metilación y acetilación que regulan la forma de la cromatina nuclear y, por tanto, la expresión de los genes que contienen. En el caso particular de los procesos de metilación, se sabe que este

mecanismo es influenciado por la edad, el ambiente, el estilo de vida y algunos factores demográficos. Existe evidencia reciente de estudios epigenómicos que han encontrado hipermetiladas regiones CpG de diferentes genes tanto en fumadores, ex fumadores, así como en pacientes con cáncer pulmonar, de los cuales destaca el represor del receptor AhR (AhRR), proteína que detiene el proceso iniciado por AhR y regula el proceso de transcripción génica; si el represor AhRR se encuentra hipermetilado, su expresión es disminuida lo que podría provocar que la vía dependiente de AhR estuviera activa constitutivamente promoviendo la expresión continua de enzimas como CYP1A1, CYP2E1, EPHX1 que bioactivan los HAPs y favorecen la formación de aductos en el DNA. Otro hallazgo importante es que, si bien las aberraciones epigenéticas causadas por el consumo de tabaco pueden ser reversibles, existen genes específicos que se mantienen diferencialmente metilados hasta 22 años después de haber cesado el tabaquismo, lo que demuestra la permanencia de las modificaciones epigenéticas (Fasanelli et al., 2015, Ambatipudi et al., 2016).

Aunque existe evidencia de que los HAP inducen metilación aberrante en ciertos genes, también existen otros trabajos donde reportan que el proceso de generación de aductos induce desmetilación de genes específicos, esto a través del mecanismo de reparación de los aductos. Los aductos HAP-DNA se reparan a través de la de reparación vía de escisión de bases, mecanismo que corta un fragmento largo de DNA alrededor de la zona que se está reparando para posteriormente ser reparada. Considerando que las zonas más probables donde se generen aductos son los sitios ricos en guaninas, especialmente en los dinucleótidos metilados, las islas CpG son blancos importantes en la generación de aductos (Gromova et al., 2011) en este proceso de reparación se pueden perder las marcas epigenéticas de metilación que mantienen silenciado al gen provocando su expresión.

Entre los genes que se han analizado destacan las secuencias *LINE1* (elementos repetidos en el genoma), que corresponden a un retrotrasposón que en condiciones normales mantiene metilado su promotor y que puede reactivarse por exposición a BaP (Teneng et al., 2011). Este tipo de alteraciones puede provocar que el gen se active y comience a insertarse en diversas zonas del genoma provocando inestabilidad genómica, inactivación de genes supresores de tumores o activación de protooncogenes. Un estudio realizado en muestras de linfocitos de sangre periférica de trabajadores

expuestos a HAPs encontró disminución de la metilación en genes como *LINE1*, *p53* (gen supresor de tumores) e *IL6* (gen proinflamatorio), así como un incremento en la metilación de *HIC1* (gen supresor de tumores); así mismo, se encontró una relación inversa entre los niveles de aductos HAP-DNAs con los niveles de metilación de *LINE1*, *p53* e *IL6* sugiriendo que las pérdidas en las marcas epigenéticas en el DNA podrían estar asociadas a los aductos y su proceso de reparación (Peluso et al., 2012).

En otro estudio realizado en muestras de placenta, se determinó la cantidad de aductos HAP-DNA, así como su relación con los niveles de metilación del gen *LINE1*, y se encontró una relación inversa entre ambos marcadores (Lee et al., 2017); la hipometilación en este marcador se asoció al riesgo de desarrollar cáncer de vejiga en mujeres, carcinoma hepatocelular y enfermedades cardiovasculares (Wilhelm et al., 2010; Baccarelli et al., 2010; Di et al., 2011).

HAPs como disruptores endócrinos

Existen varios reportes que asocian la exposición a HAPs con alteraciones en la función o síntesis de hormonas; estos efectos han sido estudiados en poblaciones humanas y modelos animales, debido a los anteriores los HAPs se encuentran clasificados como disruptores endócrinos (Zang, et al, 2016; Lee, et al, 2017, Kubincová, et al, 2019). Se define a un disruptor endócrino como una sustancia química que altera la función o funciones del sistema endocrino. Las vías a través de las cuales se puede generar esta alteración son a través de una acción directa de químico sobre el complejo proteínico del receptor, o a través de acción directa sobre una proteína específica que controla aspectos de la liberación de las hormonas (OMS, 2012).

En un estudio realizado en niños y adolescentes fueron cuantificados diferentes metabolitos urinarios derivados de HAPs y se encontró una asociación positiva entre éstos con los niveles séricos de la hormona estimuladora de tiroides (TSH), que es una hormona clave en la síntesis de hormonas tiroideas con coeficientes de correlación que van de 0.42 hasta 0.87 ($p < 0.05$), estas alteraciones indican el desarrollo de hipotiroidismo subclínico caracterizado por un incremento de TSH sin alterar los niveles normales de hormonas tiroideas, sin embargo, estos parámetros se pueden considerar como el inicio del desarrollo de hipotiroidismo. Estos hallazgos sugieren que la exposición crónica a HAPs podría resultar en una disfunción tiroidea provocando alteraciones

endócrinas como el hipotiroidismo; aunque el mecanismo por el cual los HAPs podrían generar estas alteraciones no está totalmente descrito, se sugieren alteraciones en la síntesis de hormonas, su transporte y función biológica a través de inhibición de la proteína tiroperoxidasa (indispensable para la oxidación del yodo); así como interferencia con los factores de transcripción involucrados en este proceso (Kelishadi et al., 2017).

En otro estudio realizado en población masculina se evaluó el efecto que tienen los HAPs sobre la función tiroidea y se encontró un incremento de TSH, asociado a las concentraciones de HAPs determinados en orina; aunque no se encontró alteración en los niveles de hormonas tiroideas (Zhu et al., 2009). Mientras que, en otros estudios se han asociado los niveles de HAPs urinarios con incrementos significativos en los niveles de hormonas tiroideas (Jain, 2016; Movahedinia, et al, 2018).

A nivel reproductivo se han reportado efectos adversos por exposición a HAP en modelos animales de ratas, ratones y pez cebra que mostraron alteraciones en los ejes endocrinos, inhibición de la formación y secreción de hormonas esteroideas capaces de afectar el embarazo, entre otras alteraciones reproductivas que incluyen los ovarios (Sheng et al., 2018). Mientras que otro estudio realizado en machos reportó una disminución en el conteo, movilidad espermática y niveles de testosterona, por lo que la exposición a HAPs también podría afectar la fertilidad de los machos (Jeng et al., 2008).

Por otro lado, en poblaciones humanas expuestas a HAPs se determinó un riesgo hasta 4 veces mayor de presentar abortos tempranos (antes de la semana 14), comparados con controles (OR=4.27; 95%IC: 1.41-12.99), este riesgo es mayor en mujeres que reportan congestión de tráfico cerca de su lugar de residencia, el tiempo promedio que caminan al aire libre y realizar actividades regulares de cocina en casa durante el embarazo (Wu et al., 2010).

En otros estudios se han asociado contaminantes ambientales como los bifenilos policlorados, pesticidas organoclorados y HAPs con el desarrollo de síndrome ovárico poliquístico, donde se reportaron riesgos de OR=3.81 (IC95%:1.45-10.0), OR=4.89 (IC95%: 1.81-13.2) y OR=2.39 (IC95%: 0.94-6.05), respectivamente. Aunque el mecanismo no está totalmente descrito, se ha implicado a AhR en este proceso debido a que es un receptor que se une a factores de transcripción presentes en tejido ovárico y que tiene un papel central en el crecimiento folicular

ovárico y la formación de hormonas esteroideas; por lo que los HAPs podrían reducir el número de ovocitos y estimular la apoptosis folicular a través de la vía de señalización iniciada por AhR, induciendo así la alteración ovárica prematura e incluso infertilidad (Yang et al., 2015). Este proceso molecular de regulación es complejo por lo que aún hay muchas hipótesis por ser comprobadas, particularmente en su interacción con HAPs.

Efectos de los HAPs durante la exposición prenatal

Los grupos poblacionales de mayor vulnerabilidad a los contaminantes ambientales son las etapas de desarrollo fetal, lactantes, población infantil, mujeres (particularmente embarazadas) y personas de la tercera edad. Actualmente se han dirigido estudios sobre el efecto de los HAPs durante la exposición gestacional; ya que se ha observado un crecimiento intrauterino disminuido, parto prematuro, baja estatura y bajo peso al nacer (Jedrychowski et al., 2017). Recientemente, un estudio publicado por Maciel-Ruiz et al., (2019), en binomios madre-hijos residentes de la zona metropolitana de la Ciudad de México donde determinó la cantidad de aductos presentes en cordón umbilical y sangre periférica de la madre, y encontraron que la cantidad de aductos HAP-DNA en cordón umbilical fue aproximadamente 20% mayor a los observados en la madre. La cantidad de aductos entre la madre y el recién nacido correlacionan positivamente entre ellos ($\rho=0.63$, $p<0.05$), lo que sugiere que los HAPs se transfieren efectivamente de la sangre materna a la placenta. Adicionalmente, se aportan evidencias de una mayor tasa de bioactivación de estos compuestos en tejido placentario, reflejado por la cantidad superior de aductos en placenta; estos niveles de aductos se asocian a la exposición a PM ambiental, especialmente durante el último trimestre de embarazo.

La exposición a material particulado (PM) se ha asociado a daño genotóxico, un estudio realizado en binomios madre-hijo determinó elevadas frecuencias de micronúcleos, índices bajos de proliferación celular en linfocitos de cordón umbilical, comparados con sus madres, lo que se asoció con la exposición a PM 2.5; los resultados sugieren que esta partícula puede atravesar la placenta causando daño al DNA fetal que podría estar potencializando el desarrollo de diversas enfermedades durante la infancia y la vida adulta del individuo expuesto. Por otra parte, la disminución en la proliferación celular en recién nacidos podría provocar falta de maduración en

algunos órganos con potenciales efectos nocivos (Sordo et al., 2019).

Diversos efectos nocivos se han determinado sobre los infantes expuestos a PM y HAPs, se ha reportado que niños de 4 a 9 de edad años expuestos a PM presentan una disfunción pulmonar significativa (Majewskar et al., 2018). También se ha documentado que estos compuestos pueden llegar a tener efectos neurotóxicos en infantes con alta exposición, los síntomas reportados son desorden de déficit de atención e hiperactividad, de tal forma que las desventajas socioeconómicas, así como la contaminación ambiental incrementan el riesgo de padecer efectos adversos neurológicos (Perera et al., 2018), disminución del coeficiente intelectual, razonamiento perceptual y memoria de trabajo en infantes (Vishnevetsky et al., 2015; Jedrychowski et al., 2015). Los mecanismos mediante los cuales estos efectos se desarrollan no han sido totalmente descritos, aunque se sugiere que la exposición a HAPs reduce los niveles del factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF por sus siglas en inglés), una neurotrofina que desempeña un papel crítico en el desarrollo del cerebro y continúan ejerciendo su acción de manera importante en la plasticidad del sistema nervioso maduro, también son requeridas para la neurogénesis, el mantenimiento de la función neuronal y la integridad estructural de las neuronas, donde se ha encontrado una relación inversa entre la cantidad de aductos y el desarrollo neuronal, particularmente en infantes menores de 2 años de edad (Perera et al., 2015).

En otro estudio se analizó la exposición a HAPs en infantes y se determinó la longitud de los telómeros encontrando una relación inversa entre la cantidad de aductos HAP-DNA y la longitud de los telómeros; lo anterior aporta evidencias de que la exposición prenatal a HAPs afecta los telómeros y puede tener potenciales efectos en el desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas como el cáncer, en la figura 2 se muestran los efectos de la exposición a HAPs a diferentes niveles (Perera et al., 2018).

HAPs, generación de aductos, mutaciones y cáncer

La exposición a HAPs es parte de la vida cotidiana de la población por las diversas fuentes de emisión de éstos, además de estar presentes en la dieta (como es el caso de las carnes ahumadas, carbonizadas o carnes asadas). El proceso de bioactivación de los HAPs genera moléculas reactivas capaces de unirse de manera covalente al DNA e inicia el proceso de carcinogénesis dependiendo si las mutaciones

se generan en las regiones codificantes, regiones promotoras o de regulación de genes supresores de tumores o en protooncogenes. Los mecanismos de reparación del DNA también pueden generar mutaciones en el DNA, y a pesar de que éstos se han refinado a través de la evolución, hay algunas mutaciones generadas que no son susceptibles de reparación correcta, tal es la alquilación en el oxígeno 6 de la guanina. Esta base alterada, la O-6-metil guanina, no es reconocida por el sistema *proofreading*, por lo que durante la duplicación del DNA en la mitosis, la polimerasa considera como una adenina a la guanina metilada, emparejando una timina en lugar de una citocina, dando lugar a una transición G:T en la nueva célula hija; esta modificación tiene el potencial de cambiar el marco de lectura abierto del gen, generando modificaciones como codones de alto prematuros o cambios de aminoácidos por modificación de la secuencia de DNA, por lo anterior, la formación de aductos puede ser directamente correlacionada con la mutagénesis, inhibición de la capacidad de reparación del DNA; así como con la aparición de eventos concomitantes como la inflamación y proliferación (Poirer, 2016).

En resumen, los HAPs se unen de manera covalente al DNA, inducen la incorporación de bases equivocadas durante el proceso de replicación del DNA y estas mutaciones se pueden fijar en el DNA y ser heredables a las células hijas. Es por esta razón que la exposición de HAP se ha asociado a ciertos tipos de cáncer como el cáncer oral, de pulmón, de mama, próstata, colon, estómago, vejiga, entre otros (Rajalakshmi et al., 2015). Los mecanismos que desencadenan los procesos carcinogénicos se han estudiado en humanos, en modelos animales y modelos *in vitro*; estos procesos son complejos y aún están en proceso de estudio.

En el caso del cáncer pulmonar, se han publicado evidencias de asociaciones entre la cantidad de aductos HAP-DNA determinados en tejido pulmonar con el desarrollo de la enfermedad reportando un OR= 2.64 (IC95% 2.00-3.50), asociaciones que se mantienen incluso al estratificar por hábitos tabáquicos; este estudio se realizó en 1091 sujetos, 887 casos de cáncer pulmonar y 204 controles sin la enfermedad (Ceppi et al., 2017). En la tabla 1 se describen los principales hallazgos encontrados durante la exposición a HAPs.

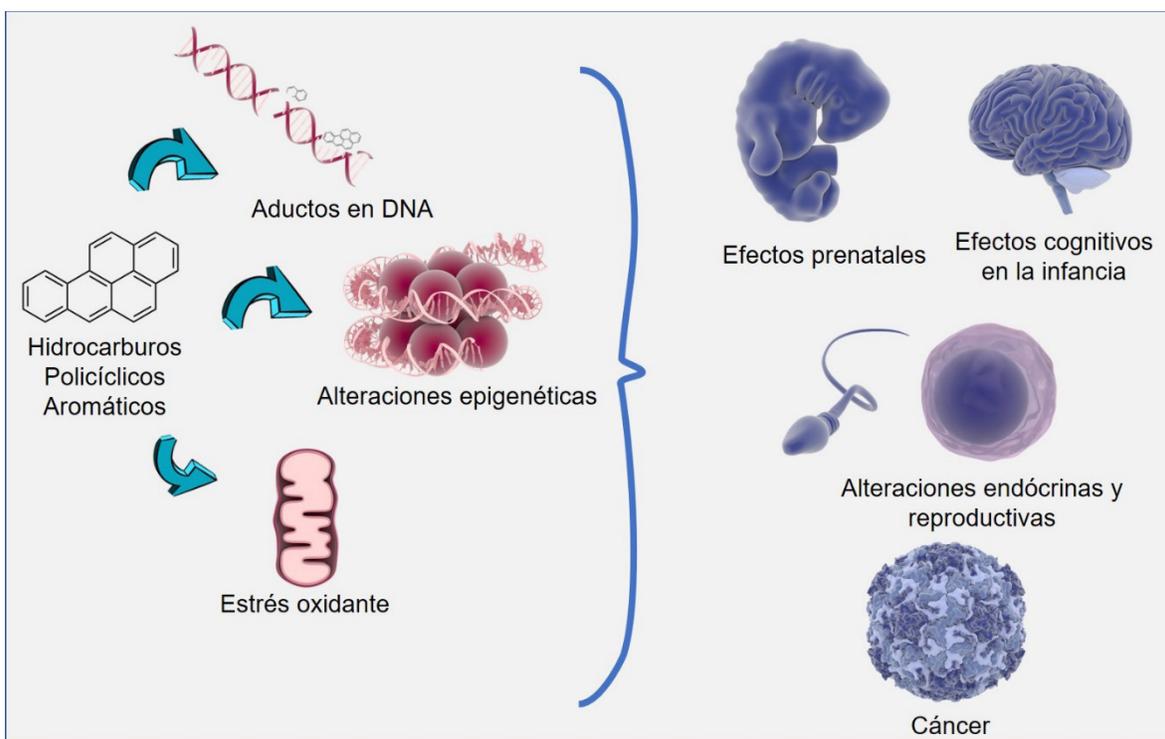


Figura 2. Principales efectos moleculares y celulares inducidos por los HAP que causan efectos adversos en la salud humana.

Tabla 1. Estudios que analizan la presencia de aductos HAP-DNA y sus efectos.

Estudio	Exposición/población/modelo	Hallazgo	Referencia
Efectos genéticos	Ratas expuestas de forma aguda a BaP intratraqueal, dérmica y oralmente	La cantidad de aductos HAP-DNA determinados en pulmón fue significativamente mayor que en linfocitos en todas las vías de administración	Godschalk et al., 2000
	BaP administrado intravenoso a ratas macho Sprague-Dawley	Aduetos HAP-DNA en pulmón fue significativamente mayor comparado con leucocitos e hígado	Marie-Desvergne et al., 2010
	BaP administrado intravenoso a ratas macho Sprague-Dawley	Formación de aductos HAP-DNA dosis dependiente en mayores cantidades en pulmón y respuesta de genes de bioactivación y estrés oxidante.	Moreau et al., 2015

Efectos epigenéticos	Análisis de metilación de 910 muestras de DNA de pacientes con cáncer de mama y controles (460 controles, 450 casos)	Se encontraron 748 islas CpG diferencialmente metiladas incluso tras 20 años de haber cesado el hábito tabáquico	Ambatupudil et al., 2016
	Análisis de metilación de 132 casos y controles de cáncer pulmonar	Se reporta hipermetilación del gen de AhRR en casos asociado al desarrollo de cáncer	Fassaneli et al., 2015
	Cultivo de células HeLa expuestas a BaP	Se inducen marcadores de transcripción génica (metilación de histona 3 y acetilación de lisina 9) en promotores de LINE1	Teneng, et al., 2011
	Análisis de marcadores de metilación de 177 personas tailandesas (67 trabajadores expuestos a HPA, 65 residentes cercanos y 45 controles rurales)	Disminución en la metilación de IL6 y LINE1. Se relaciona la cantidad de aductos HAP-DNA con los niveles de metilación de p53	Peluso et al., 2012
	Cohorte de dos poblaciones de mujeres embarazadas sin antecedentes tabáquicos previo y posterior al cierre de una empresa eléctrica a base de carbono china (110 mujeres antes del cierre, 107 mujeres después del cierre)	Relaciones inversas entre la cantidad de aductos HAP-DNA y los niveles de metilación de LINE1	Lee et al., 2017
Efectos endócrinos	Población de 150 estudiantes iraníes de 6-18 años expuestos a HAPs	Correlación positiva entre metabolitos de HAPs urinarios y niveles hormonales de TSH.	Kelishadi et al., 2017
	Población china formada por 480 hombres expuestos a HPA	Alteración en los niveles de TSH dependientes de la concentración de HAPs urinarios correlacionando positivamente	Zhu et al., 2009
	Ratones C57BL/6 hembras expuestas a HAPs	La exposición a HAPs genera apoptosis en células ováricas	Sheng et al., 2018
	Estudio de 162 mujeres chinas divididas en casos y controles. Los casos fueron mujeres con muerte intrauterina del producto previo a la semana 14 y controles mujeres que solicitaron aborto.	Incremento de hasta 4 veces de desarrollar un aborto en mujeres con niveles altos de aductos HAP-DNA	Wu et al., 2010
	50 mujeres no embarazadas diagnosticadas con síndrome ovárico poliquístico y 30 mujeres control sin la condición de estudio.	Niveles de PCB, HAPs fueron mayores en el grupo de casos que en control con riesgo a desarrollar el síndrome ovárico poliquístico	Yang et al., 2015

Efectos prenatales	Muestra que incluyó a 455 mujeres con infantes pretérmino (menor a la semana 37 de gestación)	La exposición a PM2.5 e HPA tiene efectos inversos importantes en el peso y longitud del recién nacido	Jedrychowski et al., 2017
	Binomios madre-hijo residentes de la zona metropolitana de la Ciudad de México	Los aductos HAP-DNA fueron 20% mayores en tejido placentario que en linfocitos sanguíneos de la madre.	Maciel-Ruiz et al., 2019
	Binomios madre-hijo residentes de la zona metropolitana de la Ciudad de México	Elevadas frecuencias de micronúcleos derivados de linfocitos de sangre de cordón umbilical, así como bajos índices de proliferación celular asociados a la exposición a PM2.5	Sordo et al., 2019
	Análisis espirométrico de 294 niños de 4 a 9 años de edad no asmáticos expuestos a HAP y PM2.5	Disfunción pulmonar significativa en infantes expuestos a HPA y PM2.5	Majewskar et al., 2018
	Análisis de la longitud de los telómeros a partir sangre de cordón umbilical de 225 recién nacidos	Cantidad de aductos HAP-DNA correlacionado negativamente con la longitud de los telómeros, así como con otros factores como BDNF	Perera et al., 2018
	Análisis de coeficiente intelectual de 276 niños con edad de 7 años	Efectos inversos en la cantidad de aductos HAP-DNA en la escala total de coeficiente intelectual, razonamiento y memoria de trabajo	Vishnevetsky et al., 2015
	Análisis de 170 infantes con edad de 3 años de Polonia expuestos a HAPs	Disminución del coeficiente intelectual verbal y dificultades en el aprendizaje, relacionadas con la exposición materna a HAPs por contaminación ambiental	Jedrychowski et al., 2015
	Análisis de una cohorte de 505 muestras de sangre de cordón umbilical de mujeres residentes de Nueva York de niños de 2 años.	Correlación inversa entre los niveles de aductos HAP-DNA con los niveles de BDNF y con el índice de desarrollo mental en los niños	Perera et al., 2015

Conclusión

La contaminación por HAPs se considera un problema de salud pública desde hace varios años, es por ello que se han realizado diversos esfuerzos para controlar los factores importantes en la emisión de éstos contaminantes; por ejemplo, el cierre de plantas carboeléctricas y el control en la emisión de contaminantes por vehículos automotores, en el caso particular de México a través de las Normas Oficiales Mexicanas de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales 041, 045, 047 y 050 que exigen la verificación vehicular para controlar la emisión de PM al ambiente. A pesar de ello, los efectos adversos de los HAP sobre la salud humana siguen presentándose en poblaciones que van desde problemas respiratorios como el asma hasta enfermedades complejas como el cáncer, o problemas en el desarrollo de órganos y tejidos como el cerebro. Por lo anterior, es imperativo seguir aportando evidencias científicas de los efectos nocivos de estos compuestos sobre la salud, con el objetivo de promover el desarrollo de energías limpias y control de emisión de contaminantes ambientales, ya que éstos no se encuentran presentes únicamente en el aire, también en alimentos y agua. A este respecto, si bien el consumo de alimentos es una fuente de exposición importante a HAPs, el volumen de aire respirado al día es significativamente superior que el volumen de alimentos que contengan estos contaminantes, por lo que la población se encuentra expuesta a HAPs en el aire pueden desencadenar efectos adversos en su salud.

Literatura citada

Ambatupudil S, Cuenin C, Hernández-Vargas H, Ghantous A, Le Calvez-Kelm F, Kaaks R., et al. Tobacco smoking-associated genome-wide DNA methylation changes in the EPIC study. *Epigenomics* 2016; DOI 10.2217/epi-2016-0001

Baccarelli A, Wright RO, Bollati V, Tarantini L, Litonjua AA, Suh HH, et al. Rapid DNA methylation changes after exposure to traffic particles. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (2009); 179 (7):572-578

Brown J, Thornton J. Percival Pott (1714-1788) and chimney sweepers cancer of the scrotum. *British Journal of Industrial Medicine* 1957; 68-70.

Ceppi M, Munnia A, Cellai F, Bruzzone M, Peluso, MEM. Linking the generation of DNA adducts to lung cancer. *Toxicology* 2017; 390: 160-166. doi: 10.1016/j.tox.2017.09.011

Di JZ, Han XD, Gu WY, Wang Y, Zheng Q, Zhang P, et al. Association of hypomethylation of LINE-1 repetitive element in blood leukocyte DNA with an increased risk of hepatocellular carcinoma *Journal of Zhejiang University SCIENCE B* 2011; 12 (10): 805-811, 10.1631/jzus. B1000422

Fasanelli F, Baglietto L, Ponzi E, Guida F, Campanella G, Johansson M, et al. Hypomethylation of smoking-related genes is associated with future lung cancer in four prospective cohorts. *Nature communications* 2015. DOI: 10.1038/ncomms10192

Godschalk, R, Moonen EJ, Schilderman, PA, Broekmans WM, Kleinjans JC, Van Schooten FJ. Exposure route- dependent DNA adduct formation by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Carcinogenesis* 2000; 21: 87-92

Gromova ES, Subach OM, Baskunov BV, Geacintov NE. Impact of Carcinogen-DNA Adducts on DNA Methylation. *Structural Biology of DNA Damage and Repair* 2010;103-116 DOI:10.1021/bk-2010-1041.ch007

IARC. Chemical agents and related occupations. (2012). Vol. 100 F. Lyon, France, WHO.

Jain RB Association between polycyclic aromatic hydrocarbons and thyroid function among males and females: data from NHANES 2007-2008. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2016; 20:1-15. <https://doi.org/10.1080/09603123.2015.1135311>

Jedrychowski WA, Majewska R, Spengler JD, Camann D, Roen EL, Perera F. Prenatal exposure to fine particles and polycyclic aromatic hydrocarbons and birth outcomes: a two-pollutant approach. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2017; 90(3):255-264. doi: 10.1007/s00420-016-1192-9.

Jedrychowski WA1, Perera FP, Camann D, Spengler J, Butscher M, Mroz E, Majewska R, Flak E, Jacek R, Sowa A. Prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and cognitive dysfunction in children. *Environmental Science and Pollution Research* 2015; 22(5):3631-9. doi: 10.1007/s11356-014-3627-8.

- Jeng HA, Yu L. Alteration of sperm quality and hormone levels by polycyclic aromatic hydrocarbons on airborne particulate particles. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2008; 43(7):675–681. doi:10.1080/10934520801959815
- Kubincová P, Sychrová E, Raška J, Basu A, Yawer A, Dydowiczová A, Babica P, Sovadinová I. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Endocrine Disruption: Role of Testicular Gap Junctional Intercellular Communication and Connexins. *Toxicological Sciences*. 2019; 169(1):70–83 doi: 10.1093/toxsci/kfz023
- Kelishadi R, Sobhani P, Poursafa P, Amin MM, Ebrahimpour K, Hovsepian S, Mansourian M, Najafi R, Hashemipour M. Is there any association between urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons and thyroid hormone levels in children and adolescents? *Environmental Science and Pollution Research* 2017; <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0577-y>
- Kim WJ, Lee SD. Candidate genes for COPD: current evidence and research. *International Journal of COPD* 2015; 10:2249–2255
- Lee S, Hong S, Liu X, Kim C, Jung D, Yim UH, Shim WJ, Khim JS, Giesy JP, Choi K. Endocrine disrupting potential of PAHs and their alkylated analogues associated with oil spills. *Environ Sci Process Impacts*. 2017; 9(9):1117–1125. doi: 10.1039/c7em00125h.
- Lee J, Kalia V, Perera F, Herbstman J, Li T, Nie J, et al. Prenatal airborne polycyclic aromatic hydrocarbon exposure, LINE1 methylation and child development in a Chinese cohort. *Environment International* 2017; 99: 315–320. doi: 10.1016/j.envint.2016.12.009
- Maciel-Ruiz JA, López-Rivera C, Robles-Morales R, Veloz-Martínez MG, López-Arellano R, Rodríguez-Patiño G, Petrosyan P, Govezensky T, Salazar AM, Ostrosky-Wegman P, Montero R and Gonsébat ME. Prenatal exposure to particulate matter and ozone: bulky DNA adducts, plasma isoprostanes, allele risk variants and neonate susceptibility in the Mexico City Metropolitan Area (MCMA). *Environmental and molecular mutagenesis* 2019; doi.org/10.1002/em.22276
- Majewska R, Pac A, Mróz E, Spengler J, Camann D, Mrozek-Budzyn D, et al. Lung function growth trajectories in non-asthmatic children aged 4–9 in relation to prenatal exposure to airborne particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons-Krakow birth cohort study. *Environmental Research*. 2018; 166:150–157. doi: 10.1016/j.envres.2018.05.037
- Marie-Desbergne C, Maitre A, Bouchard M, Ravanat JL, Viau C. Evaluation of DNA adducts, DNA and RNA oxidative lesions, and 3-hydroxybenzo(a)pyrene as biomarkers of DNA damage in lung following intravenous injection of parent compound in rats. *Chemical Research in Toxicology* 2010; 23:1207–14
- Molliere M, Foth H, Kahl R, Kahl, GF. Comparison of benzo(a)pyrene metabolism in isolated perfused rat lung and liver. *Archives of Toxicology* 1987; 60: 270–27
- Moorthy B, Chu C., Carlin DJ. Polycyclic aromatic hydrocarbons: From metabolism to Lung cancer. *Toxicological sciences* 2015. 145(1):5–15
- Moreau M, Ouellet N, Ayotte P, Bouchard M. Effects of intravenous benzo(a)pyrene dose administration on levels of exposure biomarkers, DNA adducts, and gene expression in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 2015; 78:166–84.
- Movahedinia A, Salamat N, Kheradmandc P. Effects of the environmental endocrine disrupting compound benzo[a]pyrene on thyroidal status of abu mullet (*Liza abu*) during short-term exposure. *Toxicol Rep*. 2018. 5: 377–382. doi: 10.1016/j.toxrep.2018.02.018
- OMS. State of the science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012
- Peluso M, Bollati V, Munnia A, Srivatanakul P, Jedpiyawongse A, Sangrajrang S, et al. DNA methylation differences in exposed workers and nearby residents of the Ma Ta Phut industrial estate, Rayong, Thailand. *International Journal of Epidemiology* 2012; 41(6):1753–1760. doi:10.1093/ije/dys129
- Perera F, Lin CJ, Qu L, Tang D. Shorter telomere length in cord blood associated with prenatal air pollution exposure: Benefits of intervention. *Environment International* 2018; 113:335–340. doi: 10.1016/j.envint.2018.01.005.

- Perera F, Phillips DH, Wang Y, Roen E, Herbstman J, Rauh V, et al. Prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons/aromatics, BDNF and child development. *Environment Research* 2015; 142:602-8. doi: 10.1016/j.envres.2015.08.011.
- Perera FP, Wheelock K, Wang Y, Tang D, Margolis AE, Badia G, et al. Combined effects of prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and material hardship on child ADHD behavior problems. *Environment Research* 2018; 60:506-513. doi: 10.1016/j.envres.2017.09.002.
- Poirier MC. Linking DNA adduct formation and human cancer risk in chemical carcinogenesis. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2016. 57(7): 499-507. doi:10.1002/em.22030
- Rajalakshmi T, AravindhaBabu N, Shanmugam K, Masthan KMK. DNA adducts-chemical addons. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* 2015; 7(5): 199. doi:10.4103/0975-7406.155901
- Sheng F, Ji Y, Ma Y, Ding H, Zhang Q, Li W. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Cause Follicle Atresia and Apoptosis in Mouse Ovarian Follicles Cultured in Vitro that can be Reduced with the Activator of PI3K/Akt Pathway, 740Y-P. *Critical Care Obstetrics and Gynecology* 2018; 04(01). doi:10.21767/2471-9803.1000155
- Singhavi H, Ahluwalia JS, Stepanov I, Gupta PC, Gota V, Chaturvedi P, et al. Tobacco carcinogen research to aid understanding of cancer risk and influence policy. *Laryngoscope Investigative Otolaryngology* 2018; 3(5): 372-376. doi:10.1002/lio2.204
- Sordo M, Maciel-Ruiz JA, Salazar AM, Robles-Morales R, Veloz-Martínez MG, Pacheco-Limón JH, et al. Particulate matter-associated MN frequencies in maternal and cord blood lymphocytes. *Environmental and molecular mutagenesis* 2019; doi.org/10.1002/em.22275
- Teneng I, Montoya-Durango DE, Quertermous JL, Lacy ME, Ramos KS. Reactivation of L1 retrotransposon by benzo(a)pyrene involves complex genetic and epigenetic regulation. *Epigenetics* 2011; 6(3):355-367, DOI: 10.4161/epi.6.3.14282
- Veglia F, Loft S, Matullo G, Peluso M, Munnia A, Perera F, et al. DNA adducts and cancer risk in prospective studies: a pooled analysis and a meta-analysis. *Carcinogenesis* 2008; 29(5): 932-936.
- Vishnevetsky J, Tang D, Chang HW, Roen EL, Wang Y, Rauh V, et al. Combined effects of prenatal polycyclic aromatic hydrocarbons and material hardship on child IQ. *Neurotoxicology and Teratology* 2015; 49:74-80. doi: 10.1016/j.ntt.2015.04.002.
- WHO. 7 million premature deaths annually linked to air pollution (Geneva: World Health Organization) 2014.
- Wilhelm CS, Kelsey KT, Butler R, Plaza S, Gagne L, Zens MS, et al. Implications of LINE1 methylation for bladder cancer risk in women *Clin. Cancer Research* 2010; 16(5):1682-1689, 10.1158/1078-0432.ccr-09-2983
- Wu J, Hou H, Ritz B, Chen Y. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and missed abortion in early pregnancy in a Chinese population. *Science of the Total Environment* 2010; 408(11): 2312-8.
- Yang Q, Zhao Y, Qiu X, Zhang C, Li R, Qiao J. Association of serum levels of typical organic pollutants with polycystic ovary syndrome (PCOS): a case-control study. *Human Reproduction* 2015; 30(8)1964-1973. doi:10.1093/humrep/dev123
- Yeh CC, Sung FC, Kuo LT. Polymorphisms of cytochrome P450 1A1, cigarette smoking and risk of coronary artery disease. *Mutation Research* 2009;667(1):77-81
- Zhang Y, Dong S, Wang H, Tao S, Kiyama R. Biological impact of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons (ePAHs) as endocrine disruptors. *Environ Pollut.* 2016; 213:809-824. doi: 10.1016/j.envpol.2016.03.050.
- Zhu P, Bian Z, Xia Y, Han Y, Qiao S, Zhao R et al. Relationship between urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons and thyroid hormone levels in Chinese non-occupational exposure adult males. *Chemosphere* 2009; 77:883-888. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.08.054>

La gobernadora (*Larrea tridentata*), el ácido norhidroguayarático, usos y riesgos de uso

¹Sánchez-Macias P. M., ¹Rodríguez-Zambrano E. L., ¹Saenz-Esqueda M. De Los A., ¹Alanis-Bañuelos R.E., ¹Castro-Barraza F., ¹Alba-Romero J. De J., *¹García-Luján C.

¹Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, Universidad Juárez Del Estado De Durango. Av. Artículo 123 s/n Fracc. Filadelfia, Gómez Palacio Dgo. C.P. 35010. Tel. (871 7 15 88 10, FAX (871) 7 15 29 64

*Email: conygarcialujan@hotmail.com

Resumen

La gobernadora (*Larrea tridentata*) es una especie vegetal perteneciente a la familia Zygophyllaceae, también conocida como chaparral o hediondilla, es un arbusto de 1 a 3 metros de altura, que crece comúnmente en los desiertos del Suroeste de Estados Unidos y el Norte de México, especies similares han sido encontradas en zonas áridas de América del Sur, mayormente en Argentina y Bolivia. A pesar de sus propiedades benéficas para la salud, su consumo en altas dosis produce efectos adversos como hepatotoxicidad y nefrotoxicidad. Los principales compuestos encontrados en la resina de la *Larrea tridentata* que han sido reportados son: lignanos fenólicos, seguido por las saponinas, flavonoides, aminoácidos y minerales. También aceites esenciales, alcaloides halógenos y ceras. El compuesto más importante que se encuentra en la resina en las células de las hojas y tallos es el antioxidante ácido nordihidroguayarático, que posee un amplio espectro en agentes antisépticos debido a su efecto inhibidor en sistemas enzimáticos, propiedades antifúngicas que han sido corroboradas mediante ensayos *in vitro* en hongos fitopatógenos. Por sus propiedades antioxidantes, tiene efectos en los componentes básicos asociados al síndrome metabólico, enfermedades neurológicas e insuficiencia renal. Posee actividad antiinflamatoria. El tetra-O-metil NDGA, también conocido como terameprocol (TMP), uno de los derivados metilados del NDGA, ha demostrado tener una alta actividad antiviral y anticancerígena. En conclusión, se demuestra que la gobernadora tiene diversos componentes químicos importantes, no obstante, debido a su toxicidad es necesario delimitar dosis exactas y estudios biodirigidos para evitar daños de cualquier tipo.

Palabras clave: Ácido nordihidroguayarático, compuestos bioactivos, propiedades biológicas.

Abstract

The creosote bush (*Larrea tridentata*) is a plant species belonging to the family Zygophyllaceae, also known as chaparral or hediondilla, is a shrub from 1 to 3 meters high, which grows commonly in the deserts of Southwest of United States and Northern Mexico. Similar species have been found in arid zones of South America, mainly in Argentina and Bolivia. Despite its beneficial properties for health, its high dose consumption produces adverse effects such as hepatotoxicity and nephrotoxicity. The main compounds found in the *Larrea tridentata* in that have been reported are phenolic lignans, followed by saponins, flavonoids, aminoacids and minerals. Also, essential oils, halogen alkaloids and waxes have been isolated from *Larrea tridentata*. The most important compound found in the resin in the cells of the leaves and stems is the antioxidant nordihydroguaiaretic acid, has a broad spectrum in antiseptic agents due to its inhibitory effect in enzymatic systems, antifungal properties that have been corroborated by *in vitro* tests in phytopathogenic fungi. Due to its antioxidant properties, it has effects on the basic components associated with the metabolic syndrome, neurological diseases and renal failure. It has anti-inflammatory activity. Tetra-O-methyl NDGA, also known as terameprocol (TMP), one of the methylated derivatives of NDGA has been shown to have a high antiviral and anticarcinogenic activity. In conclusion, it is demonstrated that the creosote bush has diverse chemical component and however due to its toxicity it is necessary to make a biodirigid studies and delimit exact doses to avoid damages of any type.

Keywords: Nordihydroguaiaretic acid, bioactive compounds, biological properties.

Introducción

Larrea tridentata es un arbusto perenne xerófito siempre verde. Su edad puede exceder los 100 años, aunque algunas plantas pueden sobrevivir cientos o miles de años a través de reproducción vegetativa asexual, ya que las raíces producen brotes o retoños que después se convierten en nuevas plantas. La edad se determina por el tamaño de la corona radicular. La raíz crece cerca de 170 cm hacia abajo, pero se ramifica hasta más de 4 m lateralmente. El tamaño de la planta varía de 0.5 a 4 m de altura dependiendo de la lluvia y de la época del año. La altura promedio varía de acuerdo con su tipo de ploidía (diploide 86 cm, hexaploide 112 cm y tetraploide 138 cm). No hay un tallo principal, pero las ramas gruesas crecen vertical u oblicuamente desde la corona radicular y se hace dicotómica lateralmente (Lira, 2003).

Se ha utilizado en la medicina tradicional para tratar más de 50 enfermedades. Los usos más comunes se asocian a enfermedades de origen renal y ginecológico. La planta se utiliza como extracto líquido acuoso o alcohólico de hojas y ramas. En México se informa que una infusión de las hojas disuelve cálculos biliares y cálculos renales cuando el té se consume durante el día. Se utiliza para tratar infecciones del tracto urinario y enfermedades venéreas, también se ha empleado para el dolor de riñón, cistitis, disuria, como diurético, así como, tratamiento para la diabetes. Se ha empleado contra la esterilidad a través de baños vaginales con infusiones de hojas y té, también se informa que es eficaz contra los dolores menstruales y la inflamación posparto (Arteaga *et al.*, 2005).

En la medicina tradicional de los pueblos indígenas de América del Norte y del Sur, el arbusto de gobernadora (*Larrea tridentata*), ha sido ampliamente utilizado para el tratamiento de diversas enfermedades incluyendo trastornos digestivos, reumatismo, enfermedades venéreas y llagas. Los principales componentes bioactivos residen aparentemente en el exudado resinoso, cuyo principal componente es el poderoso antioxidante ácido nordihidroguayarático (NDGA). Este último se utiliza principalmente en aplicaciones no alimentarias, incluyendo su función como estabilizador de polímeros (por ejemplo, caucho), un antioxidante en aceite de perfumería y formulaciones fotográficas, antihiperoglucémicos y agentes antienvjecimiento de la piel. El NDGA también tiene propiedades alelopáticas e inhibe el crecimiento de las especies invasoras de plantas que compiten por agua y nutrientes. Más recientemente,

se informó de las propiedades anticancerígenas y antivirales del NDGA y de sus derivados: por ejemplo, el compuesto 3'-O-metil-NDGA, tiene actividades anti-VIH inhibiendo el VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana), mientras que otros análogos del NDGA metilados / acetilados muestran actividades antivirales prometedoras contra el VIH, el herpes simple y el papiloma humano (Man-Ho *et al.*, 2003). Además, es una de las especies vegetales del semidesierto mejor adaptadas a las condiciones del medio seco, con un intervalo de distribución muy amplio comparado con el de otras especies (Ugalde *et al.*, 2008).

Características generales del Ácido nordihidroguayarático (NDGA)

La planta conocida como gobernadora (*Larrea tridentata*), posee propiedades como la reducción de edemas, afectación en la replicación y en la transcripción del virus de la inmunodeficiencia humana, es hipoglucemiante, es antioxidante e induce una acción antiapoptótica, tiene acción protectora de los queratinocitos ante la acción de los rayos ultravioleta, y tiene acción citotóxica para diversas células cancerosas. Las hojas de *Larrea tridentata*, producen una resina fenólica compuesta por numerosos flavonoides y flavonas parcialmente metiladas con el ácido nordihidroguayarático que comprende el 40% de la masa seca de la resina total (García *et al.*, 2010).

El compuesto más importante que se encuentra en la resina de las células cercanas a las capas epidérmicas superior e inferior de las hojas y tallos es el ácido nordihidroguayarático (NDGA), uno de los antioxidantes mejor conocidos. Químicamente se le ha descrito como beta-gamadimetil-alfa,delta-bis(3,4dihroxifenil) butano, y en términos de productos naturales, *L. tridentata* se distingue por contener gran cantidad de NDGA. Algunas investigaciones lo reportan hasta en 10% del peso seco de las hojas, es decir, constituye el 80% de todos los fenoles presentes en la resina contenida en la parte vegetal aérea. En un estudio sobre la distribución de los compuestos fenólicos en la planta, se demostró que las estructuras fotosintéticas (hojas y tallos verdes) contienen concentraciones altas de NDGA (Pañuelas *et al.*, 2011).

El ácido nordihidroguayarático (NDGA), 2,3-dimetil-1,4-bis (3,4-dihroxifenil) butano (Figura 1), es un lignano vegetal derivado de las hojas y ramitas del arbusto de gobernadora.

La concentración de NDGA en hojas de *L. tridentata* está en el rango de 5% -10% de peso seco. El NDGA es un inhibidor reconocido de la lipoxigenasa (LOX) y tiene propiedades antioxidantes y de barrido de radicales libres. El efecto protector de NDGA se ha observado contra toxicidades hepáticas y renales inducidas por el compuesto nitrilotriacetato férrico (FeNTA). También mostró un efecto protector contra la nitración de tirosina inducida por el ozono en los pulmones, el estrés oxidativo inducido por el dicromato de potasio y la nefrotoxicidad y la nefropatía diabética inducida por estreptozotocina (Rahaman *et al.* 2009).

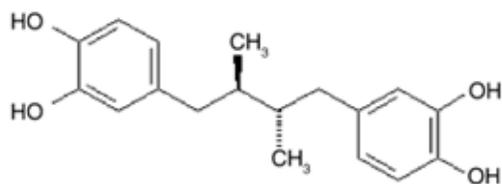


Figura 1.- Ácido nordihiroguayarético (Arteaga *et al.*, 2005).

Los efectos beneficiosos del NDGA se han atribuido esencialmente a sus propiedades antioxidantes. El NDGA es un eficaz inactivador *in vitro* del peroxinitrito, radical hidroxilo (OH) y ácido hipocloroso. Se ha demostrado que el NDGA es capaz de proteger a las ratas que están expuestas al estrés oxidativo inducido por el ozono y el dicromato de potasio. Además, del NDGA también protege los cultivos neuronales primarios de ratas contra el daño que se genera por el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y el yodo acetato (IAA). Está bien establecido que el estrés oxidativo está implicado en patologías como el cáncer, la diabetes y la inflamación. El estrés oxidativo es un desequilibrio en el estado redox que se genera por la producción exacerbada de especies reactivas de oxígeno (ROS) o sistemas protectores disminuidos, tales como las enzimas o moléculas limpiadoras. De hecho, el aumento de la producción de ROS causa daño celular e incluso la muerte celular, y los antioxidantes pueden ayudar a prevenir o aliviar las enfermedades en las que el estrés oxidativo está involucrado (Guzmán *et al.*, 2013).

Usos del NDGA en enfermedades neurológicas

Una serie de enfoques experimentales han revelado una estrecha conexión entre las enfermedades neurodegenerativas y el estrés oxidativo. La actividad antioxidante del NDGA disminuye fuertemente la secreción de citoquinas por las

células dendríticas. Se protege significativamente contra el daño post-isquémico celular y funcional en el cerebro por múltiples mecanismos, incluyendo un α -tocoferol como el barrido de hidroperóxidos lipídicos. El NDGA también ha demostrado ser un potente agente antiperfusión en isquemia *in vitro* y en modelos animales a través de diferentes vías antioxidantes. Otro mecanismo celular reconocido como neurotóxico es la homeostasis del glutamato. El NDGA ha sido identificado como un compuesto capaz de inducir la absorción y la super regulación del glutamato de sus niveles de expresión y la actividad del transportador de glutamato EAAT2 (GLT-1) en ratones (Jian *et al.*, 2010).

La administración de NDGA, un antioxidante que funciona inhibiendo la peroxidación lipídica, redujo notablemente la formación de aductos de 4- Hidroxi-2-nonenal(4-HNE) en las inclusiones nucleares de las neuronas estriadas R6 / 2. El NDGA también protegió las neuronas cultivadas contra el estrés oxidativo inducido por la muerte celular mediante la mejora de la generación de ATP, la morfología y la función mitocondrial. Además, el NDGA restauró el potencial de membrana mitocondrial, la estructura mitocondrial y la estructura de sinapsis en el cuerpo estriado de ratones R6 / 2 y aumentó su vida útil. Los presentes hallazgos sugieren que estudios terapéuticos adicionales usando el NDGA están garantizados en la enfermedad de Huntington (HD) y otras enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por un mayor estrés oxidativo y una alteración de la función mitocondrial. Se demostró que la terapia con NDGA, que reduce la peroxidación lipídica y la disfunción mitocondrial, reducen también el fenotipo patológico en ratones HD. En otros estudios, la administración de NDGA dio como resultado un efecto beneficioso en las neuronas modulando la función mitocondrial y el estrés oxidativo. Además, el NDGA ha mejorado la neuropatología y también extendió la supervivencia de ratones transgénicos R6 / 2. Los resultados sugieren que el NDGA puede ser un candidato para futuros ensayos clínicos en HD y otros trastornos neurodegenerativos (Lee *et al.*, 2011).

La inhibición de la agregación de amiloide- β (A β) es una estrategia terapéutica atractiva para la enfermedad de Alzheimer. Uno de los signos patológicos de la enfermedad de Alzheimer (AD) son los depósitos extracelulares de la proteína amiloide- β agregada (A β) en el parénquima cerebral (placas seniles) y los vasos sanguíneos cerebrales angiopatía amiloide cerebral (CAA). La deposición de altos

niveles de A β fibrilar en la AD en el cerebro está asociado con la pérdida de sinapsis, el deterioro de las funciones neuronales, y la pérdida de neuronas. El NDGA suprime la acumulación inducida por A β de especies reactivas de oxígeno. En un estudio reciente de la formación de fibrillas A β *in vitro*, el NDGA inhibió la oligomerización, pero no afectó a la fibrilación, lo que fue contrario a los resultados actuales. Los resultados contradictorios pueden estar relacionados con diferencias en las condiciones experimentales. Como los oligómeros positivos para A11 se incrementaron en el cerebro del grupo tratado con NDGA en el presente estudio, el NDGA sería inapropiada para la aplicación clínica. El NDGA puede ser inapropiado porque inhibe la deposición de A β , pero no la oligomerización (Hamaguchi *et al.*, 2009).

También se ha mostrado que el NDGA inhibe la formación de fibrillas β -amiloides en el sistema nervioso central y la acumulación de β -péptidos. Estas propiedades sugieren que el NDGA es un compuesto interesante para el desarrollo de fármacos potenciales contra la enfermedad de Alzheimer (AD). También se informaron efectos anti-amiloidogénicos similares en estudios con ratones que apoyan las propiedades preventivas potenciales de estos compuestos naturales contra AD (Vuorinen *et al.*, 2017).

Actividad antiinflamatoria del NDGA

En particular, el NDGA inhibe la afluencia de Ca²⁺ intracelular después del tratamiento con tripsina o péptido activador de receptor 2 activado por proteasa (PAR2). En un modelo de dermatitis atópica inducida por oxazolona utilizando ratones sin pelo, se estudió si el compuesto NDGA afecta la diferenciación de los queratinocitos y la inflamación inhibiendo la activación de PAR2. El NDGA reduce la movilización de Ca²⁺ intracelular en queratinocitos-HaCaT mediante la regulación negativa de mediadores inflamatorios, tales como la interleucina-8, el timo y la quimiocina regulada por activación y la molécula 1 de adhesión celular intercelular en queratinocitos-HaCaT. Además, el NDGA disminuye la expresión proteica de involucrina, un creador de diferenciación de queratinocitos, tanto en queratinocitos-HaCaT como en queratinocitos epidérmicos humanos normales. La aplicación tópica de NDGA produjo un aumento en la recuperación de la pérdida de agua transepidérmica y una disminución en el nivel de IgE sérica, sin pérdida de peso. En consecuencia, se sugiere que el NDGA actúa como un antagonista de PAR2 y puede ser un posible agente terapéutico para

la dermatitis atópica (Hyo *et al.*, 2012).

Los extractos de *Larrea tridentata* han sido utilizados durante siglos por nativos de desiertos de América Occidental y de México para tratar una variedad de enfermedades infecciosas y trastornos inflamatorios. El terameprocol (TMP) presente en esta especie vegetal, inhibe la producción inducida de LPS (mediadores lipídicos) y varias citoquinas inflamatorias clave y quimiocinas, tanto *in vitro* como *in vivo*, lo que plantea la posibilidad de que el TMP podría ser útil como un tratamiento para una variedad de trastornos inflamatorios (Hansen *et al.*, 2009).

Actividad del NDGA sobre el síndrome metabólico

El ácido nordihidroguayarático (NDGA), el principal metabolito de la *Larrea tridentata* tiene profundos efectos sobre los componentes básicos del síndrome metabólico, incluyendo la reducción de los niveles de glucosa en sangre, ácidos grasos libres (FFA) y triglicéridos (TG) y atenuar la presión de sangre elevada en varios modelos de roedores con dislipidemia inducida, así como a mejorar el peso corporal (obesidad), la resistencia a la insulina, la diabetes y la hipertensión. En un estudio recientemente publicado, se proporcionó evidencia utilizando como control, una dieta con alto contenido de grasa en un modelo de ratas con pre-diabetes y obesidad inducida por la dieta (DIO), control ob / ob y se obtuvo evidencia de que el NDGA ejerce sus acciones hipolipidémicas, incluyendo la mejora de hígado graso, mediante la estimulación de la actividad del receptor de hormonas nucleares, que es el principal regulador de los tres sistemas de oxidación de los ácidos grasos hepáticos que a su vez mejoran la dislipidemia promoviendo una mayor canalización de los ácidos grasos hacia su oxidación y, por tanto, limitando la producción, almacenamiento y secreción de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) -TG. Además, se observó que las vías independientes del PPAR α -, también podrían contribuir con la acción del NDGA para mejorar la esteatosis hepática (Zhang *et al.*, 2016).

El NDGA, tiene efectos profundos en los componentes básicos del síndrome metabólico (MetS), disminuyendo los niveles de glucosa en sangre, ácidos grasos libres y triglicéridos (TG) en varios modelos de dislipidemia, así como la mejora del peso corporal (obesidad), la resistencia a la insulina, la diabetes y la hipertensión, y la mejora de la esteatosis hepática. El tratamiento con NDGA puede atenuar la hipertrigliceridemia inducida

por la dieta de alta fructosa y la esteatosis hepática (acumulación de TG). Sobre la base de los datos experimentales obtenidos, las acciones beneficiosas del NDGA sobre la hipertrigliceridemia y la esteatosis se ejerce por un mecanismo dual: la inhibición de la lipogénesis y la expresión funcional mejorada de la ruta de β -oxidación de los ácidos grasos. Además, el NDGA promueve una mayor canalización de ácidos grasos hacia la oxidación, alejándose de la síntesis de TG, alterando la expresión de una serie de genes asociados con el metabolismo lipídico (Zhang *et al.*, 2015).

El arbusto de gobernadora (*Larrea tridentata*) se usa para tratar una variedad de enfermedades incluyendo la diabetes tipo 2. Las decocciones y los extractos orales de hojas y ramas han sido utilizados por los indios Pima en los Estados Unidos y en México, para el tratamiento de la diabetes. Además, se ha informado que el NDGA reduce la glucosa plasmática y los triglicéridos (TGs) en ratas tratadas con estreptozotocina, también reduce la secreción de TG y el contenido de TG hepático en ratas con hipertrigliceridemia inducida por fructosa e inhibe la dipeptidilpeptidasa 4. Muchas de las actividades farmacológicas de *L. tridentata* se han atribuido a sus lignanos, aunque muchos otros componentes están presentes en el extracto que podría estar sinergizando o potenciando sus actividades. El extracto etanólico de *L. tridentata* podría ser útil en el tratamiento del síndrome metabólico (Del Vecchio *et al.*, 2016).

Usos del NDGA en la insuficiencia renal

La insuficiencia renal aguda (IRA) se caracteriza por una rápida disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG) durante horas a días y la retención de residuos nitrogenados. La tasa de mortalidad de los pacientes con IRA se ha mantenido entre el 25 y el 70%, a pesar del uso de diversos agentes farmacológicos.

El inhibidor de la 5-lipoxigenasa (LOX), el ácido nordihidroguayarático (NDGA), es un lignano simple y se encuentra en arbustos de hoja perenne, como el arbusto de *Larrea tridentata*. Se ha informado que los inhibidores de la lipoxigenasa (LOX) tienen efectos protectores sobre las alteraciones motoras del íleon, inducidas por las endotoxinas, para promover la adaptación después de la resección masiva del intestino y para ayudar a corregir los espasmos coronarios de origen inmune. El NDGA es un potente inhibidor de la actividad de la lipoxigenasa y también es un fuerte antioxidante. Se ha informado que reduce la proteinuria. El NDGA también

disminuye el nitrógeno ureico en la sangre (BUN) y la creatinina (SCr). El NDGA también mejora la función renal sin afectar los niveles de hemoglobina. Estos resultados sugieren que el NDGA podría actuar directamente a través de la estimulación de la regeneración de células tubulares, incluso en el marco de post-tratamiento (Lee *et al.*, 2009).

Efectos secundarios en el uso de la gobernadora (*Larrea tridentata*)

El uso de la gobernadora se ha asociado con hepatotoxicidad severa. Desde 1990, incidentes de hepatotoxicidad relacionados con el uso de la gobernadora fueron reportados a la FDA en los Estados Unidos, y todos los casos fueron cuidadosamente revisados generando una imagen más clara de su potencial hepatotóxico. Un estudio de 18 pacientes reveló que la toxicidad asociada a la gobernadora varió de hepatitis leve a cirrosis y falla hepática fulminante. El patrón predominante de daño hepático observado fue hepatitis colestática con altas transaminasas séricas y elevación de bilirrubina y fosfatasa alcalina. Una minoría de pacientes presentó cirrosis y dos pacientes requirieron trasplante por la insuficiencia hepática fulminante. El mecanismo de hepatotoxicidad no se conoce cabalmente. Sin embargo, el NDGA ha sido identificado como agente hepatotóxico en ratones. En dosis bajas y altas, inhibe las vías de la lipoxigenasa. Una hipótesis es que altas concentraciones de NDGA inhiben la ciclooxigenasa conduciendo a la producción de mediadores proinflamatorios que producen hepatotoxicidad (Rodríguez *et al.*, 2008).

El NDGA aumentó significativamente la incidencia de tumores de hígado, pulmón y timo y diátesis hemorrágica peritoneal encontrada en la necropsia. Sin embargo, las químicas clínicas encontraron poca evidencia de toxicidad manifiesta. Aunque el NDGA no era abiertamente tóxico en su dosis terapéutica, su asociación con patologías severas de fin de vida no apoya la idea de que el consumo de NDGA aumentará la vida humana o la duración de la salud. Los derivados menos tóxicos de NDGA que están en desarrollo deben explorarse como agentes terapéuticos antienvjecimiento. Se reportó atrofia en el crecimiento de ratones macho y hembras, y una inducción de lesiones cecales inflamatorias, hemorragias y quistes en ratas. En los seres humanos, el consumo de suplementos dietéticos con hojas de gobernadora y extractos de tallos resultó en hepatitis tóxica, cirrosis e insuficiencia hepática fulminante (Spindler *et al.*, 2016).

El NDGA es un antioxidante que también inhibe la lipoxigenasa, influyendo así en la cascada de leucotrienos y suprimiendo la ovulación en ratas. Por lo tanto, puede plantear un riesgo potencial de toxicidad reproductiva si se ingiere en grandes cantidades. Se propuso que el NDGA se convirtiera en fitoestrógeno por la flora intestinal. Además, se demostró que tenía efectos estrogénicos, siendo un agonista de ER α , con tendencia a ser selectivo frente a Er β (Vuorinen *et al.*, 2017).

El NDGA es un antioxidante que también inhibe la lipoxigenasa, influyendo así en la cascada de leucotrienos y suprimiendo la ovulación en ratas. Por lo tanto, puede plantear un riesgo potencial de toxicidad reproductiva si se ingiere en grandes cantidades. Se propuso que el NDGA se convirtiera en fitoestrógeno por la flora intestinal. Además, se demostró que tenía efectos estrogénicos, siendo un agonista de ER α , con tendencia a ser selectivo frente a Er β (Vuorinen *et al.*, 2017).

Adicionalmente, se ha propuesto que los lignanos son posiblemente los responsables de la toxicidad de *L. tridentata*. Estos compuestos se identifican principalmente en extractos etanólicos, tabletas o cápsulas, pero alcanzan niveles bajos en infusiones acuosas lo que puede explicar la ausencia de datos de toxicidad en ratas. Por otro lado, no es posible descartar un efecto tóxico en ratas después de periodos mayores a los 95 días (Portilla-de-Buen *et al.*, 2007).

Conclusiones

Se conoce que el principio activo más importante en la gobernadora (*Larrea tridentata*), es el ácido norhidroguayarático (NDGA) que funciona como antioxidante y este se encuentra en la resina de las hojas del arbusto, siendo el causante de la toxicidad en la planta, no obstante, también es el responsable de sus propiedades biológicas como lo son las actividades: antifúngica, antibacteriana, antiviral, antioxidante, anticancerígena y antiinflamatoria.

Se puede concluir que este arbusto posee muchas propiedades farmacológicas y nuevas investigaciones arrojan resultados novedosos, como el hecho de que el terameprocol (TMP), que es un componente metilado del NDGA, posee propiedades anticancerígenas, antivirales y antibacterianas y muy recientemente, se ha reportado que el NDGA es hipoglucemiante y puede ayudar al control del síndrome metabólico.

La diversidad de componentes fitoquímicos con bioactividad abre amplias posibilidades para el estudio biodirigido de los mismos, especialmente en el área de actividad antitumoral. Por lo pronto el uso en preparaciones antimicóticas de uso tópico es el más seguro que se puede proponer.

Literatura citada

Lira S. R. H. Estado Actual del Conocimiento sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]. Revista Mexicana de Fitopatología. 2003; 21: 214-222.

Arteaga S, Andrade-Cetto A, Cárdenas R. "*Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. Journal of Ethnopharmacology. 2005; 98: 231-239.

Man-Ho Ch, Moinuddin G A, Helms G L, Hishiyama S, Eichinger D, Davin L B, Lewis N G. *Larrea tricin* hydroxylase, an enantio-specific polyphenol oxidase from the creosote Bush (*Larrea tridentata*). PNAS. 2003; 100: 19: 10641-10646.

Ugalde Á J, Granados-Sánchez D y Sánchez-González A. Sucesión en el matorral desértico de *Larrea tridentata* (D.C.) Cov. en la Sierra de Catorce, San Luis Potosí, México Terra Latinoamericana. 2008; 26: 2: 153-160.

Peñuelas R O, Arellano-Gil M, Vargas-Arispuro IC, Lares-Villa F, Cantú-Soto EU, Hernández-Rodríguez SE, Gutiérrez-Coronado M A, Mungarro-Ibarra C. Bioactividad *in vitro* de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre la inhibición de hongos poscosecha: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae*" Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias. Instituto Tecnológico de Sonora. 2015; 40: 183-198.

Rahman S, Rizwan R A A. Nordihydroguaiaretic Acid from creosote bush (*Larrea tridentata*) Mitigates 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetate-Induced Inflammatory and Oxidative Stress Responses of Tumor Promotion Cascade in Mouse Skin. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2009; 1-10.

- Guzmán B S, Pedraza C J, Gonzalez R S, Hernández S F, Juárez F U, González Y, Bobadilla K, Torres M. Nordihydroguaiaretic Acid Attenuates the Oxidative Stress-Induced Decrease of CD33 Expression in Human Monocyte. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013; 1-14.
- Jian-Ming L, Nurko J, Weakley S M, Jiang J, Kougias P, Lin P H, Yao Q, Chen C. Molecular mechanisms and clinical applications of nordihydroguaiaretic acid (NDGA) and its derivatives: An update. *Med Sci Moni*. 2010; 16: 5: 1-15.
- Lee J, Kosaras B, Del-Signore S J, Cormier K, Mckee A, Ratan R R, Kowall N W, Ryu H. Modulation of lipid peroxidation and mitochondrial function by nordihydroguaiaretic acid (NDGA) improves neuropathology in Huntington's disease mice. *Acta Neuropathol*. 2011; 121: 4: 487- 498.
- Hamaguchi T, Ono K, Murase A, Yamada M. Phenolic Compounds Prevent Alzheimer's Pathology through Different Effects on the Amyloid- Aggregation Pathway". *The American Journal of Pathology*. 2009; 175: 6: 2557-2565.
- Vuorinen A, Engeli R T, Leugger S, Bachmann F, Akram M. Potential Antiosteoporotic Natural Product Lead Compounds That Inhibit 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2". *Journal of Natural Products*. 2017; 80: 965- 974
- Hyo-Kim H Y, Goo-Jung H, Joo-Yeon A, Ha-Lee Y, Se-Lee Mi, Chang-Oh T, Soo-Ahn M, Nam-Hoon K, Jae-Hwang S. Impact on Inflammation and Recovery of Skin Barrier by Nordihydroguaiaretic Acid as a Protease-Activated Receptor 2 Antagonist. *Biomol Ther*. 2012; 5: 463-469
- Hansen RL, D-Oyegunwa AO, Cecil CE, Culver CA, Scholle F, Petty ITD, Laster SM. Terameprocol, a methylated derivative of nordihydroguaiaretic acid, inhibits production of prostaglandins and several key inflammatory cytokines and chemokines, *Journal of Inflammation*. 2009; 1-18.
- Zhang H, Li Y, Hu J, Shen J W, Singh M. Effect of Creosote Bush-Derived NDGA on Expression of Genes Involved in Lipid Metabolism in Liver of High-Fructose Fed Rats: Relevance to NDGA Amelioration of Hypertriglyceridemia and Hepatic Steatosis. *PLOS ONE*. 2015; 10: 9: 1-21.
- Zhang H, Shen Wen-Jun, Li-Yihang, Bittner A, Bittner S. Microarray analysis of gene expression in liver, adipose tissue and skeletal muscle in response to chronic dietary administration of NDGA to high-fructose fed dyslipidemic rats. *Nutrition & metabolism*. 2016; 13: 63: 1-26.
- Del Vecchio T, Rodríguez C M, Andrade C A, Cárdenas V R. Creosote Bush (*Larrea tridentata*) improves insulin sensitivity and reduces plasma and hepatic lipids in hamsters fed a high fat and cholesterol diet. *Frontiers in Pharmacology*. 2016; 7: 194: 1-10.
- Lee-Dong W, Kwak I S, Lee-Soo B, Song S H, Seong E Y, Yang B Y, Lee M Y, Sol M Y. Post-treatment Effects of Erythropoietin and Nordihydroguaiaretic Acid on Recovery from Cisplatin-induced Acute Renal Failure in the Rat". *The Korean Academy of Medical Sciences*. 2009; 24: 170-175.
- Rodriguez F L, Reyes E E S J, Herrera D R, Torres E. Risks and Benefits of Commonly used Herbal Medicines in México. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008; 227: 1: 125-135.



A través de las unidades académicas de:

Facultad de Ciencias de la Salud-Gómez Palacio
Facultad de Ciencias Químicas-Gómez Palacio
Facultad de Medicina y Nutrición-Durango
Facultad de Ciencias Químicas-Durango
Instituto de Investigación Científica-Durango

Convoca a la comunidad de profesionistas y académicos del área de las ciencias biomédicas a cursar el:

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

Programa Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT

Objetivo General

Formar investigadores en el área de las Ciencias Biomédicas capaces de generar y aplicar el conocimiento en forma original, innovadora e independiente con impacto directo en la resolución de los problemas prioritarios de salud con ética y equidad, contribuyendo así a mejorar la calidad de vida de la población regional, estatal y nacional

Perfil del aspirante

El aspirante deberá tener la vocación para la investigación científica; poseer experiencia en trabajos de investigación en las Ciencias Biomédicas, además de madurez intelectual reflejada en el razonamiento crítico, verbal y manejo del inglés técnico, disponibilidad de tiempo completo para dedicarse al programa.

Requisitos generales de ingreso

1. Acreditar el grado de Maestría en Ciencias en disciplinas Biomédicas, Médicas, Químicas, Biológicas o áreas afines
2. Comprobar promedio mínimo de ocho (o equivalente) en los estudios de Maestría
3. Presentar un ejemplar de *curriculum vitae* con documentos probatorios
4. Presentar un compromiso escrito de dedicación de tiempo completo al programa, con un mínimo de 40 hrs/sem.
5. Presentar dos cartas de recomendación de investigadores en activo, reconocidos y con grado de Doctor
6. Presentar el examen EXANI-III del CENEVAL y obtener un puntaje mínimo de 1080 puntos
7. Comprobante de comprensión de lectura y de escritura del idioma inglés, con un puntaje mínimo de 450 en el examen TOEFL ITP de ETS
8. Carta de apoyo del director de tesis (profesor del núcleo académico del doctorado) indicando el nombre del anteproyecto que desarrollará el alumno.
9. Aprobar la entrevista con los profesores del Comité de Selección del Programa
10. Aprobar la presentación del anteproyecto de tesis doctoral ante el Comité de Selección del Programa

Lineas de Investigación

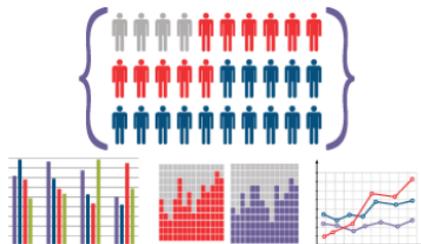
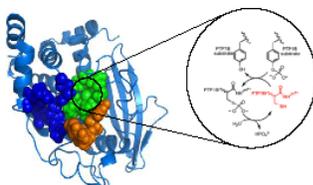
1. Efectos en la salud ocasionados por factores ambientales y nutricionales.
2. Patogenia de enfermedades crónico degenerativas.
3. Biología molecular, celular y bioquímica de agentes patógenos.
4. Epidemiología molecular de enfermedades de interés regional.



Duración del programa: Cuatro años, en ocho semestres
Recepción de documentos: A partir de septiembre de 2019 al 31 de enero 2020
Entrevistas y presentaciones: Por definir
Publicación de resultados: Por definir
Inscripciones: Segunda semana de febrero de 2020
Inicio de cursos: Tercera semana de febrero de 2020

Becas

El programa de doctorado está registrado en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, por lo que los candidatos aceptados, tendrán el apoyo institucional de la UJED para el trámite de becas ante CONACYT.



Informes

OFICINA DEL DOCTORADO: dcbiomedicasujed@gmail.com
Facultad de Medicina y Nutrición: Dra. Claudia I. Avitia Domínguez (avitiaclaudia@gmail.com, 618-8121779)
Facultad de Ciencias de la Salud: Dra. Janeth O. Guangorena Gómez (janethguangorena@hotmail.com, 871-7145122)
Facultad de Ciencias Químicas Durango: Dra. Estela Ruz Baca (erub730@hotmail.com, 618-1301120)
Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio: Dra. Esperanza Y. Cálceros (peracalceros@gmail.com, 871-7158810)
Instituto de Investigación Científica: Dr. Osmel la Llave León (ollaves56@yahoo.es, 618-8116226)



Cuerpo académico UJE-CA-108 Fisiopatología en Salud Ambiental
LGAC: Bases Moleculares y Bioquímicas de la Salud Ambiental

Nombre proyecto	Investigador responsable	
Nitrosaminas y óxido nítrico como derivados del metabolismo de los nitratos, su papel en la respuesta a la hipoxia mediada por HIF y su implicación en la carcinogenesis.	<p align="center">Rebeca Pérez Morales</p>  	
Variabilidad genética y caracterización bioquímica de las metaloproteinasas y la toxina		
Citotoxicidad del nitrato y nitrito en distintas líneas celulares y su posible mecanismo de acción		
<p>Alteración en la síntesis de hormonas tiroideas mediada por los factores de transcripción FOXE1 y PAX8 durante la intoxicación crónica por nitratos</p> <p>Estudios de biomarcadores obesogénicos y angiogénicos (leptina, IGF-1 y VEGF) y su relación con la respuesta a la terapia en pacientes con cáncer de mama.</p>		
Biomarcador de insuficiencia renal		
Anemia asociada a factores ambientales en el estudiante Universitario	<p align="center">Esperanza Yasmín Calleros Rincón</p>	
Alteraciones de la glándula tiroides y determinación de oncogenes por consumo de agua contaminada por nitratos		
Interacciones medicamentosas más comunes en diferentes áreas de un hospital de alta especialidad en la Ciudad de México		
Evaluación del daño oxidativo al ADN en niños con exposición prenatal al arsénico, flúor y compuestos organoclorados	<p align="center">Edgar Héctor Olivas Calderón</p> 	
Evaluación de la función renal e hipertensión arterial en población expuesta a cadmio		
Detección de anticuerpos IgG e IgM contra Toxoplasma gondii en primigestantes y sus neonatos en el Hospital General de Gómez Palacio, Dgo.		

CIENCIAS BIOMÉDICAS

(Salud, Epidemiología, Nutrición)



*“El hombre nunca sabe de lo que es capaz hasta que lo intenta”
Charles Dickens (1812-1870); escritor inglés.*

Células satélite y su contribución a la regeneración muscular en salud y enfermedad

¹Rodolfo Daniel Avila Aviles, ¹Lawrence Christopher Lopez Mendez,
¹José Manuel Hernández Hernández.

¹Departamento de Genética y Biología Molecular. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN). Av. Instituto Politécnico Nacional 2508. Colonia Zacatenco. CP 07360. Ciudad de México. México. Tel.:(55) 57473800 Ext. 5322.

*Email: jose.hernandezh@cinvestav.mx

Resumen

El papel del músculo esquelético es vital para la función respiratoria, el mantenimiento postural y la locomoción. Su funcionalidad depende de su alta capacidad de regeneración. Las células satélite (CS), son las células troncales del músculo esquelético y son necesarias para la regeneración, el crecimiento y el mantenimiento muscular. Durante el proceso de regeneración, las CS se activan y dividen de forma asimétrica para generar una célula troncal y un progenitor destinado a reparar o generar nuevas miofibrillas. El balance entre troncalidad y diferenciación es determinante en la regeneración pues alteraciones en este proceso tienen implicaciones clínicas. En esta revisión, discutimos el proceso de regeneración muscular mediado por las células satélite, los mecanismos de división celular, su regulación epigenética y las alteraciones en la dinámica de división que contribuyen al desarrollo de Distrofia Muscular. Finalmente, abordamos las estrategias terapéuticas basadas en edición genética, con el objetivo de ofrecer un panorama general sobre los esfuerzos por establecer un tratamiento para esta enfermedad.

Palabras clave: Células satélite, Distrofia Muscular de Duchenne, Regeneración muscular, CRISPR/Cas, mioedición.

Abstract

The homeostasis of skeletal muscle is determinant for respiratory function, postural maintenance and locomotion. Behind its high regenerative potential are the muscle specific stem cells, also known as satellite cells. During muscle regeneration, satellite cells are activated and divide asymmetrically to give rise to a satellite stem cell and a myogenic satellite cell, which is more prone to differentiate and to regenerate the fiber. Here, we review the process of muscle regeneration, the epigenetic mechanisms regulating its function and alterations in asymmetric divisions that contribute the pathogenesis of Muscular Dystrophy. Finally, we review myoediting strategies to treat muscle diseases.

Key words: Satellite cells, Duchenne Muscular Dystrophy, muscle regeneration, CRISPR/Cas, myoedición.

Introducción

El músculo esquelético adulto está compuesto por numerosas miofibrillas multinucleadas que contienen la maquinaria contráctil necesaria para funciones fundamentales del organismo como la locomoción, el soporte postural y la respiración; así como la recepción, integración y transducción de señales metabólicas provenientes de la mayoría de los tejidos del organismo. En consecuencia, el mantenimiento homeostático de la integridad muscular es fundamental en los procesos de regeneración durante el desarrollo, así como en respuesta al daño físico y a los cambios en el nicho celular durante la vida del organismo (Yucel, et al. 2019).

Caracterizado por su alta capacidad de regeneración, el crecimiento y la función del músculo esquelético adulto dependen de la existencia y funcionalidad de una población de células especializadas con una alta capacidad de replicación y regeneración. Aproximadamente del 2 al 7% del total de los núcleos asociados a una miofibrilla particular en el músculo esquelético adulto, corresponden a las células troncales musculares; denominadas células satélite (CS) debido a su ubicación anatómica en un nicho especializado de la fibra muscular, localizado entre el sarcolema y la matriz extracelular (Yucel, et al. 2019).

En el ratón, las CS se originan alrededor del día embrionario E16.5 a partir de una población celular que se localiza en el mesodermo paraxial; estructura que se genera de forma bilateral adyacente al tubo neural. El mesodermo se segmenta progresivamente en una orientación rostro-caudal para generar estructuras conocidas como somitas; de donde se originan el esclerotoma, reservorio de precursores de hueso y cartílago; y el dermomiótoma, en donde se originan los precursores musculares (Chal, et al. 2017). Mientras la mayoría de los precursores generados en el dermomiótoma entran al programa de diferenciación muscular y forman miofibrillas, una población de progenitores musculares se mantiene indiferenciada y adopta una localización de CS en las fibras musculares para eventualmente, salir del ciclo celular y servir como reservorio para los procesos de regeneración que den lugar a lo largo de la vida del organismo (Buckingham, et al. 2014).

En condiciones fisiológicas normales del músculo adulto, las CS se encuentran en un estado mitóticamente quiescente, con actividades metabólicas y transcripcionales basales (Velthoven, et al. 2019).

En respuesta a estímulos - inducidos principalmente por el daño físico o el crecimiento, las CS se activan y reingresan al ciclo celular para, por un lado, dar lugar a las células precursoras miogénicas o mioblastos necesarios para la regeneración muscular y al mismo tiempo replicarse y restablecer el reservorio de CS. Indistintamente de su estado metabólico, todas las CS expresan el factor transcripcional Pax7, cuyo papel en el mantenimiento de la homeostasis muscular ha quedado de manifiesto mediante la generación y el estudio del modelo murino deficiente de este factor (Seale, et al. 2000). La pérdida progresiva de la población total de CS, la disminución de la capacidad de regeneración muscular en el organismo adulto, así como la reducción significativa del diámetro de las fibras musculares son los rasgos característicos de la deficiencia de Pax7 (Seale, et al. 2000).

Dada la importancia de las CS, en esta revisión se expondrán sus mecanismos de proliferación y diferenciación, así como de enfermedades asociadas a mutaciones en el proceso de reparación muscular y terapias basadas en la tecnología CRISPR/Cas diseñadas contra dichas patologías.

Quiescencia y Activación de las Células Satélite

En el músculo esquelético adulto, las CS se encuentran en estado quiescente, es decir, en un estado de arresto reversible del ciclo celular en la etapa G_0 , con rasgos característicos como bajo contenido de ARN, baja actividad metabólica, bajo volumen citoplasmático y altos contenidos de heterocromatina (Velthoven, et al. 2019).

En respuesta a señales de regeneración las CS se activan y reingresan al ciclo celular, proliferan y eventualmente se fusionan para reparar las fibras dañadas. A nivel molecular, múltiples redes de regulación transcripcional controlan de forma jerárquica el desarrollo de la diferenciación muscular, Figura 1. La expresión de los Factores Reguladores Miogénicos (MRFs) Myf5 y MyoD, comprometen a las células a la entrada irreversible al programa terminal de diferenciación para generar mioblastos, los cuales proliferan dando lugar a los progenitores miogénicos necesarios para la regeneración (Olguin, et al. 2007). En este estadio, la expresión del factor transcripcional Pax7 disminuye y los MRFs Miogenina y MRF4 inducen la expresión de genes de diferenciación terminal y proteínas estructurales que permitirán la funcionalidad de la miofibrilla madura (Olguin, et al. 2007).

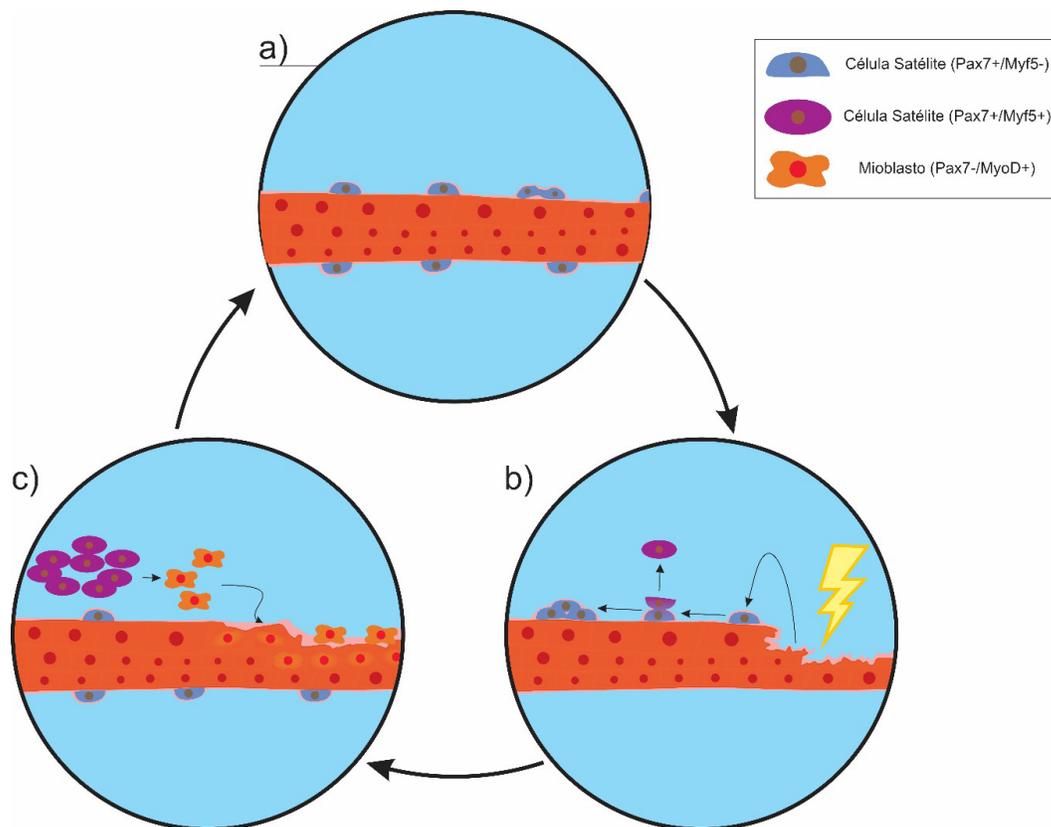


Figura 1. Mantenimiento de las fibras musculares. a) Fibra muscular en condiciones fisiológicas. Las CS se encuentran en un nicho especializado entre el sarcolema y la matriz extracelular en un estado quiescente. b) Activación de las células satélite. En respuesta a estímulos de regeneración, las CS se activan por la influencia de diversas moléculas que inducen las divisiones simétricas y asimétricas, generando células satélite troncales y células satélite miogénicas. c) Reparación de la fibra muscular. Las CS miogénicas proliferan y generan mioblastos, los cuales se agrupan fusionando su membrana para regenerar la fibra muscular dañada.

Análisis comparativos de perfiles de expresión génica, han revelado un grupo de cerca de 500 genes que se encuentran sobre-expresados en CS quiescentes, en comparación con células activadas. Entre ellos, se incluyen reguladores negativos de la progresión del ciclo celular como el inhibidor de cinasas dependientes de ciclina 1B (Cdkn1b) y 1C (Cdkn1c), la proteína supresora de tumores Rb y el factor inhibidor del factor de crecimiento de fibroblastos, sprouty 1 (Spry1). Se sugiere que la expresión de estos factores disminuye a medida que las CS se activan e ingresan al programa de diferenciación (Dumont, et al. 2015). También, se ha descrito que la expresión del factor transcripcional Foxo3 es mayor en las CS quiescentes. En estas, Foxo3 induce la expresión de Notch1, cuya señalización favorece el mantenimiento de la quiescencia celular. De hecho, alteraciones en la señalización de Notch, como los son los factores RBP-J, Hes y Hey, causan activación espontánea de las CS y una disminución de su población total (Wen, et al. 2012). Adicionalmente, se ha determinado la

participación de micro-ARNs en el mantenimiento de la quiescencia de CS. Por ejemplo, Myf5 es blanco del micro-ARN miR-31; juntos son secuestrados en partículas ribonucleoproteicas (mRNP) presentes en CS quiescentes (Cheung, et al. 2012; Crist, et al. 2012). Tras la activación de las CS, los gránulos mRNP son disociados permitiendo la rápida traducción de Myf5 y con ello la progresión del programa de diferenciación muscular.

En respuesta a las señales de activación, en las CS activadas se induce la expresión de genes involucrados en la síntesis de ARN y ADN, así como en la progresión del ciclo celular. Adicionalmente, marcadores de superficie que participan en la transducción de señales de activación se expresan en CS activadas, entre ellos, c-Met, FGFR1, FGFR4, syndecan-3 y syndecan-4 (Wozniak, et al. 2003; Templeton, et al. 1992; Sheehan, et al. 1999; Cornelison, et al. 2001).

Por otro lado, el estrés mecánico producido por el ejercicio o la ruptura de las miofibrillas induce la liberación de TNF-alfa, óxido nítrico (NO) y del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) los cuales actúan como señales de activación; Como consecuencia del daño a la miofibrilla, la producción de NO por la óxido nítrico sintasa (NOS) dispara la liberación de HGF desde la matriz extracelular, el cual se asocia con su receptor c-Met. Aunque el papel de c-Met en la activación celular es poco conocida, HGF y FGF potencian la señalización de la vía de las MAPK cinasas para modular la proliferación y diferenciación celular. Por ejemplo, se ha observado que la señalización de p38 a/b MAPK es fundamental para la proliferación de las CS (Ono, et al. 2015; Troy, et al. 2012).

2.2 Heterogeneidad de las células satélites

Las CS no son una población celular homogénea. Kuang y colaboradores describieron la existencia de poblaciones heterogéneas de CS con rasgos fenotípicos y funcionales distintos. En el modelo murino *Myf5-Cre-ROSA26-YFP*, obtenido mediante la cruce de los ratones transgénicos *Myf5-Cre* y *ROSA26LoxP-YFP*, la expresión de la recombinasa Cre es dependiente de la actividad del promotor de *Myf5* en las CS *Pax7+* y a su vez la actividad de Cre permite la síntesis del reportero YFP presente en el alelo de expresión constitutiva *Rosa26*, marcando así las CS y sus descendientes que expresaron *Myf5* en algún punto del desarrollo (Kuang, et al. 2007). Mediante este sistema genético, se determinó que cerca del 10% de las células *Pax7+* fueron negativas a YFP, lo que indicó que nunca expresaron *Myf5* durante el desarrollo. El aislamiento y el trasplante de estas poblaciones celulares en el músculo esquelético de ratones deficientes de *Pax7*, mostró que a diferencia de las CS *Pax7+/Myf5+*, las células *Pax7+/Myf5-* trasplantadas, poseen mayor capacidad de replicación y regeneración durante periodos prolongados, al tiempo que contribuyen con el restablecimiento del reservorio de CS en el nicho muscular. Además, se observó que las células *Myf5-* pueden dar lugar tanto a células *Myf5+* como *Myf5-* a través de divisiones asimétricas que suceden a lo largo del eje apical-basal, perpendicular a la fibra muscular. Por otro lado, las células *Myf5+* solo pueden generar células *Myf5+* a través de divisiones simétricas generadas en el plano longitudinal de la fibra muscular. Estas evidencias sugieren que la población de células *Pax7+/Myf5-* funcionan como verdaderas CS troncales, y las células *Pax7+/Myf5+*, más sensibles a ingresar al programa de

diferenciación muscular, funcionan como CS miogénicas, que responden con mayor rapidez a las señales de activación (Sambasivan, et al. 2011).

Los mecanismos moleculares que regulan la expansión simétrica o asimétrica de las CS han sido poco estudiados, sin embargo, se ha sugerido que la segregación asimétrica de factores citoplasmáticos, así como la distribución diferencial de componentes de la matriz extracelular son algunos de los mecanismos que regulan estos procesos celulares. Por ejemplo, se ha demostrado que la vía no canónica de señalización por Wnt dirige la expansión de células *Myf5-* a través de divisiones simétricas. La expresión muscular de *Wnt7a* incrementa durante el proceso de regeneración y por otro lado su receptor de membrana *Frizzled-7* (*Fzd7*) es más abundante en las células *Myf5-*. Durante la división de células *Myf5-*, *Fzd7* induce la expresión polarizada de *Vangl2* en respuesta a *Wnt7a* para activar la vía de señalización de polaridad planar (PCP) y de esta manera asegurar la expansión de la población de células *Pax7+/Myf5-*. Además, *Wnt7a/Fzd7* activan la vía de AKT/mTOR en las fibras musculares adultas para inducir hipertrofia muscular, teniendo la función dual de expansión de progenitores musculares y la de incremento de la masa muscular de las fibras diferenciadas (Brack, et al. 2008). Por otro lado, evidencias recientes muestran que las CS tienen la capacidad de remodelar su nicho celular para regular su propia expansión. Las células *Myf5+* activadas durante la regeneración producen grandes cantidades de la glicoproteína de matriz extracelular Fibronectina, la cual incrementa la actividad de *Wnt7a* durante la regeneración muscular. (Le Grand, et al. 2009; Tierney, et al. 2014, Brack, et al. 2008; Carlson, et al. 2008) La inhibición de la expresión de Fibronectina en CS aisladas reduce su capacidad de regenerar el nicho de CS después de su trasplante en ratones receptores. Lo anterior, ilustra la complejidad de los procesos de regulación de la función de las CS y la oportunidad que representa explorar mecanismos que contribuyan a entender las bases moleculares de la expansión de progenitores musculares.

A nivel epigenético, el equilibrio entre las señales de activación e ingreso al programa de diferenciación muscular de las CS o bien su inducción a la salida del ciclo celular para ingresar a quiescencia, es controlada en parte, por la actividad transcripcional de *Pax7* y sus modificaciones post-traduccionales. McKinnel y colaboradores mostraron que *Pax7* recluta al complejo proteínico con actividad metil-transferasa de histonas que incluye a las proteínas *Wdr5*, *Ash2L*

y MLL2 al “*enhancer*” transcripcional localizado a -57kb del sitio de inicio de la transcripción de Myf5. Para que este reclutamiento ocurra, las argininas contenidas en el dominio N-terminal de Pax7 deben ser metiladas por la metil-transferasa de argininas Carm1 (Prmt4) durante divisiones asimétricas, generando la señal para la expresión de Myf5 en las células que entrarán al programa de diferenciación terminal. El análisis de divisiones asimétricas en cultivos de fibras musculares demostró que la interacción de Pax7-Carm1 se da exclusivamente en CS miogénicas Pax7⁺/Myf5⁺, no obstante que la expresión de estos componentes transcripcionales es idéntica en ambas poblaciones, lo que implica la presencia de reguladores epigenéticos adicionales que modulan la actividad transcripcional durante divisiones asimétricas. Recientemente, otro miembro de la familia de las metil-transferasas de argininas, Prmt5 ha sido implicada en la regulación de la función de las CS. En condiciones normales, el reclutamiento de Prmt5 a regiones reguladoras del gen p21, correlaciona con la metilación de la arginina 8 de la histona 3 (H3R8me2), generando un ambiente transcripcionalmente no permisivo que refleja la represión del gen p21 y la inhibición de la proliferación celular, lo que resulta fundamental para el mantenimiento del estado quiescente. Sin embargo, la deficiencia de Prmt5 específicamente en células Pax7⁺ provoca la expresión prematura del gen p21, así como la activación y diferenciación descontrolada de CS; disminuyendo su disponibilidad para futuros eventos de regeneración muscular. El análisis de la actividad de Prmt5 y su participación durante los procesos de divisiones asimétricas se desconoce, sin embargo, es posible que exista especificidad por los blancos de metilación entre Prmt5 y Carm1 durante la activación de CS, lo cual puede estar relacionado con la segregación asimétrica de componentes celulares durante los ciclos de división. La hipótesis sobre la segregación asimétrica de una de las cromátidas hermanas durante la división de células pluripotenciales, ha sido probada en el contexto muscular. Mediante electro-pulsación de análogos de timidina halogenados, se observó que, a lo largo de las divisiones de CS, únicamente las células progenitoras retenían el ADN parental marcado, mismo que co-localizaba con los factores Numb y Sca1, implicados en eventos de proliferación celular; mientras que las células hijas no marcadas ingresaron al programa miogénico y generaron fibras musculares diferenciadas (Beerman, et al. 2015; Dumont, et al. 2015).

Lo anterior evidencia la complejidad de los procesos

que toman lugar en la regeneración muscular y pone claramente de manifiesto que el desciframiento y el entendimiento de los mecanismos que dictan las decisiones celulares de división simétrica y asimétrica de las CS proporcionará información invaluable para la generación de futuras aplicaciones terapéuticas en enfermedades

La Distrofia Muscular de Duchenne. El papel de las Células Satélite.

La Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) es una enfermedad genética que se caracteriza por la degeneración grave del músculo esquelético y la pérdida progresiva de su función. Es una enfermedad que afecta a 1 de cada 3600 varones nacidos vivos y su característica más frecuente es la debilidad muscular, que culmina con la pérdida de la capacidad motriz a una edad aproximada de 10 años y la muerte hacia la segunda década de vida, típicamente por deficiencias respiratorias. La DMD es una enfermedad genética recesiva ligada al cromosoma X, causada por mutaciones en el gen DMD, que codifica la proteína Distrofina (Morgan, et al. 2003; Guiraud, et al. 2015). El gen DMD es el más grande del genoma humano, el cual mide aproximadamente 2.2 megabases. Su ARN mensajero posee 81 exones en 13.7 kb y codifica una proteína de 427 Kilodaltones.

A la fecha, se han reportado cerca de 7000 mutaciones en el gen DMD. Cerca del 68% de ellas corresponden a deleciones, el 11% a duplicaciones de uno o múltiples exones y el 20% corresponden a mutaciones puntuales (Bladen, et al. 2015). Dichas mutaciones no están distribuidas uniformemente a lo largo del gen, sino concentradas en regiones denominadas “puntos calientes”. Estas regiones abarcan los exones 2-20 y los exones 45-55. Aproximadamente 15% de las deleciones y el 50% de los eventos de duplicación ocurren dentro de los exones 2-20. Por otro lado, el 70% de las deleciones y 15% de la duplicación de exones ocurre entre los exones 45-55.

En el músculo normal, la Distrofina se localiza en la membrana de las miofibrillas, formando un complejo macromoleculinario denominado complejo de glicoproteínas asociadas a la Distrofina (DGC). El complejo DGC está conformado por proteínas como: Distrofina (DMD), distroglicanos (Dag), distrobrevinas (DBn), M-cadherinas (Mcad), sarcoglicanos (SG) y sintrofinas (Syn). El complejo DGC es un componente esencial de la membrana de las miofibrillas, al establecer un puente molecular que conecta el citoesqueleto, a través de los filamentos de actina, con la matriz extracelular. Esto

provee de estabilidad mecánica a la fibra muscular durante los ciclos de contracción-relajación y además múltiples moléculas de señalización interactúan con este complejo. La ausencia de la Distrofina en el sarcolema, ocasiona un incremento en la fragilidad y permeabilidad de la membrana, lo que provoca necrosis de las miofibrillas, infiltrado inflamatorio y reemplazo por tejido conectivo.

Además de su función estructural en la estabilidad de las miofibrillas, la expresión de la Distrofina ha sido detectada en CS, donde juega un papel esencial en la regulación del establecimiento de la polaridad celular y la división asimétrica (Dumont, et al. 2015; Feige, et al. 2018). Tras la activación de las CS, la Distrofina es distribuida en uno de los polos celulares, lo cual induce la localización celular de la cinasa efectora de la polaridad celular Mark2, también conocido como Par1b, hacia el mismo polo. Esto induce la relocalización del efector de polaridad Pard3 hacia el polo celular opuesto. La segregación de Par1b y Pard3 hacia los polos opuestos, es un mecanismo altamente conservado de división celular asimétrica. Sin embargo, en el ratón mdx, un modelo murino de DMD, la deficiencia de la Distrofina impide la relocalización sub-celular de las proteínas efectoras de la polaridad celular, provocando la disminución de las divisiones asimétricas y por consiguiente la generación de progenitores miogénicos necesarios para la eficiente regeneración de la fibra muscular.

Estrategias terapéuticas para la Distrofia Muscular: La mioedición.

Se han desarrollado diversas estrategias terapéuticas con el objetivo de promover el restablecimiento de la función muscular y evitar la progresión de la enfermedad. Estrategias farmacológicas, el empleo de oligonucleótidos antisentido e incluso el trasplante de mioblastos o CS han sido los esfuerzos encaminados a un posible tratamiento. A pesar de generar algunos resultados favorables, la mayoría de estas estrategias no han permitido el restablecimiento de la función muscular o de la expresión de la Distrofina en tiempos sostenidos y prolongados (Zhang, et al. 2018).

En trabajos recientes, la edición génica se ha explorado como una forma de corregir de manera permanente las mutaciones que causan DMD. La principal estrategia orientada a la edición génica en el gen DMD se basa en el uso del sistema CRISPR/Cas9. Esta herramienta de edición del genoma, actúa como unas tijeras moleculares capaces de eliminar cualquier secuencia de ADN del genoma de forma

específica.

Las estrategias empleadas para restablecer la expresión o funcionalidad del gen DMD en ratones mdx utilizando CRISPR/Cas9, se basan en la corrección de su marco de lectura. Dichas estrategias se resumen en la Figura 2 y consisten en los siguientes puntos:

Delección de un exón. Esta estrategia busca la corrección del marco de lectura del gen (ORF) mediante la eliminación del exón que, como consecuencia de una mutación en el gen, impide la traducción adecuada de la Distrofina. Esto puede ser logrado ocupando un sistema donde un ARN guía complementario a la secuencia blanco (sgARN), es usado para flanquear el exón de interés y generar simultáneamente dos cortes de doble cadena mediante la proteína Cas9. La estrategia de delección de un exón también puede ser aplicada en casos de duplicación de exones. Dicha herramienta ha sido empleada para la eliminación exitosa del exón 53 y para los exones del 45-55 (Ousterout, et al. 2015).

Salto de exones. Esta estrategia permite la eliminación dirigida y específica de las secuencias denominadas donadoras de "splicing", promoviendo la omisión de exones que contienen mutaciones y permitiendo la generación de un ARN mensajero más corto pero funcional, que carece de un exón mutante. Mediante esta estrategia se han logrado eliminar los exones 51 y 53 restituyendo la expresión y función de Dmd (Maggio, et al. 2016).

Rescate de exón. Varios estudios han reportado esta estrategia para manipular exones con incompatibilidad de marcos de lectura con respecto a exones adyacentes que contienen mutaciones. A diferencia de la estrategia de delección de un exón, esta herramienta únicamente crea pequeñas inserciones o delecciones para minimizar la longitud de la modificación. Esta estrategia ha sido reportada para el rescate de los exones 44 y 53 en ratones mdx (Li, et al. 2015; Bengtsson, et al. 2017).

Knock-in de exón. En general, las estrategias anteriores generarán una proteína trunca pero funcional. En contraste, las mutaciones en el gen DMD se pueden corregir mediante knock-in de exón, permitiendo la generación de proteína Distrofina completa. Esta estrategia ha sido exitosamente empleada para la corrección de los exones 23 y 53 (Zhu, et al. 2017).

Edición de bases. Dado que a la par de delecciones o inserciones existen mutaciones puntuales que

inducen DMD, la edición de bases es una estrategia posible de ser empleada. La edición de base emplea una dCas9 (nucleasa inactiva) que es fusionada con una Adenin-deaminasa para sitio específico C-G a T-A. La Adenin-deaminasa cambia la base sin generar una ruptura de doble cadena. Esta estrategia evita la impredecibilidad de la recombinación no homologa que tendría que llevarse a cabo en otros sistemas. Dicha estrategia ha sido reportada para el cambio de Adenina a Guanina en ratón mdx, en una mutación sin sentido del exón 20 (Komor, et al. 2016; Landrum, et al. 2016).

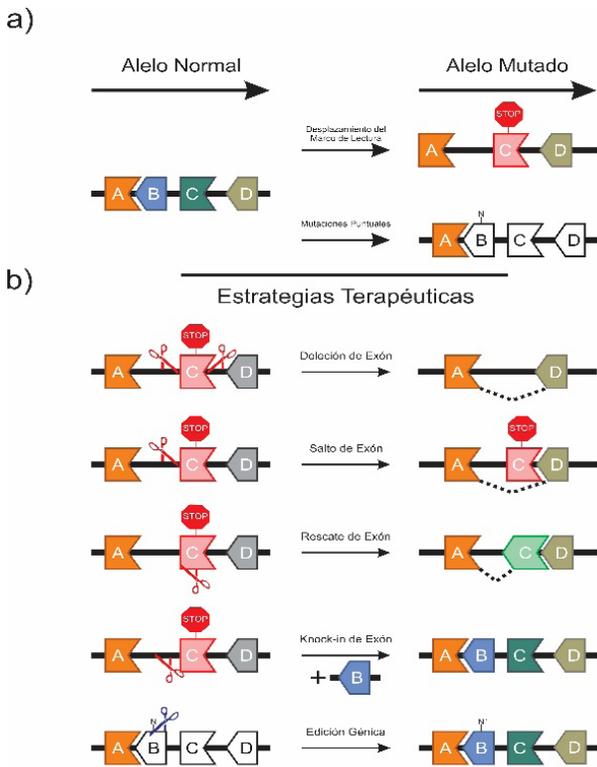


Figura 2. Estrategias terapéuticas para la Distrofia Muscular. a) Representación del efecto que eliminaciones o mutaciones puntuales tienen sobre la modificación en el marco de lectura del mRNA del gen DMD. b) Representación de las diferentes estrategias de edición genética para la restauración del marco de lectura del mRNA del gen DMD.

Conclusiones

Las CS son fundamentales en el proceso de regeneración muscular. Para llevar a cabo sus funciones de forma adecuada, es necesario el mantenimiento y regulación de la dinámica de diferenciación muscular. Desde la quiescencia celular, la activación y el compromiso miogénico, hasta la diferenciación y restablecimiento del reservorio

de CS. Sin embargo, aún quedan interrogantes por descubrir en este complejo proceso entramado de señalización. La identificación y caracterización de poblaciones celulares que de forma coordinada permiten la regeneración muscular, así como su origen embrionario son algunas de las líneas de investigación que nos permitirán entender este proceso y establecer herramientas terapéuticas para el tratamiento de enfermedades musculares como la DMD. En este sentido, el descubrimiento de que la Distrofina es expresada en CS y es esencial en el establecimiento de la polaridad celular y las divisiones celulares asimétricas, proporciona nuevas líneas de investigación para entender la etiología de la DMD. Aunque en los últimos años los avances con respecto a potenciales tratamientos se han enfocado en la terapia génica basada en el sistema CRISPR/Cas9 para corregir mutaciones en el músculo esquelético adulto, estas estrategias no toman en cuenta la oportunidad de establecer herramientas basadas en el empleo de células troncales. Quizá el diseño o descubrimiento de moléculas que actúen en la modulación de divisiones asimétricas, para generar específicamente progenitores o células troncales, sea una vía promisoriosa para el tratamiento de diversas condiciones clínicas del músculo esquelético.

Literatura citada

Beerman I, Rossi D. Epigenetic control of stem cell potential during homeostasis, aging, and disease. *Cell stem Cell* 2015; 16: 613-625

Bengtsson NE, Hall JK, Phelps MP, Andrus CR, Hawkins RD, Hauschka SD, et al. Muscle-specific CRISPR/Cas9 dystrophin gene editing ameliorates pathophysiology in a mouse model for Duchenne muscular dystrophy. *Nature Communications* 2017; 8: 14454-14454

Bladen CL, Salgado D, Monges S, Foncuberta ME, Kekou K, Kosma K, et al. The TREAT-NMD DMD Global Database: analysis of more than 7,000 Duchenne muscular dystrophy mutations. *Hum Mutat* 2015; 36: 395-402.

Brack, A.S. et al. A temporal switch from notch to Wnt signaling in muscle stem cells is necessary for normal adult myogenesis. *Cell Stem Cell* 2008; 2: 50-59

Buckingham M, Rigby PWJ. Gene Regulatory Networks and Transcriptional Mechanisms that control myogenesis. *Developmental Cell* 2014; 10: 225-239.

- Carlson, M.E. et al. Imbalance between pSmad3 and Notch induces CDK inhibitors in old muscle stem cells. *Nature* 2008; 454: 528–532.
- Chal J, Pourquié O. Making muscle: skeletal myogenesis. *The Company of Biologist*. 2017. doi:10.1242/dev.151035
- Cheung TH, Quach NL, Charville GW, Liu L, Park L, Edalati A, et al. Maintenance of muscle stem-cell quiescence by miRNA-489. *Nature*. 2012; 482: 524–528.
- Cornelison DDW, Filla MS, Stanley HM, Rapraeger AC, Olwin BB. Sybdecn-3 and Syndecan-4 specifically mark skeletal muscle satellite cells and are implicated in satellite cell maintenance and muscle regeneration. *Developmental Biology* 2001; 239: 79–94.
- Crist CG, Montarras D, Buckingham M. Muscle satellite cells are primed for myogenesis but maintain quiescence with sequestration of Myf5 mRNA targeted by microRNA-31 in mRNP granules. *Cell Stem Cell* 2012; 11: 118–126.
- Dumont NA, Wang YX, Rudnicki MA. Intrinsic and extrinsic mechanisms regulating satellite cell function. *The company of Biologist* 2015; 142: 1572–1581
- Dumont NA, Wang YX, von Maltzahn J, Pasut A, Bentzinger CF, Brun CE, et al. Dystrophin expression in muscle stem cells regulates their polarity and asymmetric division. *Nat Med* 2015; 21: 1455–1463.
- Feige P, Brun CE, Ritso M, and Rudnicki MA. Orienting Muscle Stem Cells for Regeneration in Homeostasis, Aging, and Disease. *Cell stem cell* 2018; 23: 653–664.
- Guiraud S, Aartsma-Rus A, Vieira NM, Davies KE, van Ommen GJ, Kunkel LM. The Pathogenesis and Therapy of Muscular Dystrophies. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2015; 16: 281–308.
- Komor AC, Kim YB, Packer MS, Zuris JA, Liu DR. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature* 2016; 533: 420–424.
- Kuang, S. et al. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell* 2007; 129: 999–1010.
- Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown G, Chao C, Chitipiralla S, et al. ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants. *Nucleic Acids Res* 2016; 44: D862–D868.
- Le Grand, F. et al. Wnt7a activates the planar cell polarity pathway to drive the symmetric expansion of satellite stem cells. *Cell Stem Cell* 2009; 4: 535–547.
- Li HL, Fujimoto N, Sasakawa N, Shirai S, Ohkame T, Sakuma T, et al. Precise Correction of the Dystrophin Gene in Duchenne Muscular Dystrophy Patient Induced Pluripotent Stem Cells by TALEN and CRISPR-Cas9. *Stem Cell Reports* 2015; 4: 143–154
- Maggio I, Stefanucci L, Janssen JM, Liu J, Chen X, Mouly V, et al. Selection free gene repair after adenoviral vector transduction of designer nucleases: rescue of dystrophin synthesis in DMD muscle cell populations. *Nucleic Acids Res* 2016; 44: 1449–1470.
- Morgan JE, Partridge TA. Muscle satellite cells. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2003; 35: 1151–1156.
- Olguin, H. C. et al. Reciprocal inhibition between Pax7 and muscle regulatory factors modulates myogenic cell fate determination. *J. Cell Biol.* 2007; 177: 769–779.
- Ono, Y. et al. Muscle stem cell fate is controlled by the cell polarity protein scrib. *Cell Rep.* 2015; 10: 1135–1148.
- Ousterout DG, Kabadi AM, Thakore PI, Majoros WH, Reddy TE, Gersbach CA. Multiplex CRISPR/Cas9-based genome editing for correction of dystrophin mutations that cause Duchenne muscular dystrophy. *Nat Commun* 2015; 6: 6244.
- Sambasivan, R. et al. Pax7-expressing satellite cells are indispensable for adult skeletal muscle regeneration. *Development* 2011; 138: 3647–3656.
- Seale, P. et al. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell* 2000; 102: 777–786.
- Sheehan SM, Allen RE. Skeletal muscle satellite cell proliferation in response to members of the fibroblast grow factor family and hepatocyte grow factor. *Journal of cellular physiology* 1999; 181: 499–506.
- Templeton TJ, Hauschka SD. FGF-mediated aspects of skeletal muscle growth and differentiation are controlled by a high affinity receptor, FGFR1. *Developmental Biology* 1992; 154: 169–181.

Tierney MT, et al. STAT3 signaling controls satellite cell expansion and skeletal muscle repair. *Nat. Med.* 2014; 20: 1182-1186.

Troy, A. et al. Coordination of satellite cell activation and self-renewal by Par-complex-dependent asymmetric activation of p38alpha/beta MAPK. *Cell Stem Cell* 2012; 11: 541-553.

Velthoven CTJ, Rando TA. Stem cell quiescence: dynamism, restraint, and cellular idling. *Cell Stem Cell Review* 2019; 24: 213-225.

Wen, Y. et al. Constitutive Notch activation upregulates Pax7 and promotes the self-renewal of skeletal muscle satellite cells. *Mol. Cell. Biol.* 2012; 32: 2300-2311.

Wozniak AC, Pilipowicz O, Yablonka-Reuveni Z, Greenway S, Craven S, Scoott E, Anderson JE. C-Met expression and mechanical activation of satellite cells on cultured muscle fibers. *Journal of histochemistry and cytochemistry* 2003; 11: 1437-1444.

Yucel N, Blau Hm. Skeletal Muscle stem cell. En: *Principles of regenerative Medicine*. 3a edition. 2019.

Zhu P, Wu F, Mosenson J, Zhang H, He TC, Wu WS. CRISPR/Cas9- Mediated Genome Editing Corrects Dystrophin Mutation in Skeletal Muscle Stem Cells in a Mouse Model of Muscle Dystrophy. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017; 7: 31-41.

Evaluación del desempeño entre plasma rico en plaquetas puro (PRPP) y fibrina rica en plaquetas-leucocitos (PRP-L) en la regeneración en úlceras vasculares

^{1,2*}José de Jesús Alba-Romero, ³Pablo Ruiz-Flores, ¹Esperanza Yazmín Calleros-Rincón, ¹Damari Lizeth Alba-Romero, ⁴Graciela Castro-Escarpulli, ¹Sandra Isabel Hernandez-Gonzalez, ¹Aurora Martínez-Romero

¹División de Estudios de Postgrado e Investigación. Facultad de Ciencias Químicas.

Unidad Gómez Palacio. Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED).

²Laboratorio de Asesores Especializados de la Laguna, Gómez Palacio, Durango.

³Centro de Investigaciones Biomédicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Torreón Coahuila.

⁴Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental. Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Instituto Politécnico Nacional.

*Email: jalbar_1@hotmail.com

Resumen

La cicatrización y recuperación de tejido en úlceras vasculares de diversas etiologías ha constituido un reto principalmente para los médicos angiólogos. En la última década tanto el PRP y posteriormente la FRP-L han constituido una alternativa para la solución de este problema de salud. Los Factores de crecimiento (FC) son una herramienta útil en la cicatrización y vascularización de las úlceras debido a las funciones de diferenciación y proliferación celular, así como la angiogénesis. El objetivo fue evaluar el desempeño de dos métodos en el proceso de regeneración de úlceras vasculares. En nuestro estudio se formaron dos grupos, a uno de ellos se le administró FRP-L y al otro se le aplicó PRPP. Se cuantificó los FC a cada biomaterial, encontrando que el suero FRP-L contiene mayor concentración que el PRPP. Los tiempos de cicatrización de las úlceras vasculares fue más rápido con FRP-L que con el PRPP. Con los resultados obtenidos concluimos que la FRP-L es más eficiente que el PRPP en la cicatrización de las úlceras vasculares.

Palabras clave: úlceras, fibrina rica en plaquetas, plasma rico en plaquetas

Abstract

Healing and recovery of tissue in vascular ulcers of various etiologies has been a challenge mainly for angiologists. In the last decade, both the PRP and later the FRP-L have constituted an alternative for the solution of this health problem. The coagulation factors (FC) are a useful tool in the healing and vascularization of ulcers due to the functions of cell differentiation and proliferation, as well as angiogenesis. The objective was to evaluate the performance of two methods in the process of regeneration of vascular ulcers. In our study, two groups were formed, one of them was given FRP-L and the other was given PRPP. The FC was quantified for each biomaterial, finding that the FRP-L serum contains a higher concentration than the PRPP. The healing times of the vascular ulcers was faster with FRP-L than with the PRPP. With the results obtained we conclude that the FRP-L is more efficient than the PRPP in the healing of vascular ulcers.

Introducción

El manejo de úlceras crónicas de distinta etiología, mediante un tratamiento conservador con fibrina rica en factores de crecimiento plaquetarios o Plasma Rico en Plaquetas (PRP), ha dado experiencia que reafirma buenos resultados. El uso de PRP para úlceras crónicas en pacientes refractarios a otro tipo de tratamientos tanto conservadores como quirúrgicos, es actualmente una alternativa real para conseguir una mejoría evidente e incluso la curación completa de las lesiones (1). Entre las heridas de la piel destacan por su cronicidad úlceras de decúbito, las úlceras venosas de las piernas, las úlceras arteriales, las úlceras neurotróficas y las úlceras del pie en pacientes con diabetes. El PRP autólogo es un posible tratamiento para la cicatrización de las heridas porque tiene componentes como la fibrina (una sustancia producida en el hígado que hace que la sangre coagule) y concentraciones altas de factores de crecimiento que se cree que ayudan en la cicatrización (2). Recientemente, investigadores a nivel internacional han duplicado sus esfuerzos para dar mayor conocimiento al respecto de los mecanismos de regeneración celular proponiendo nuevas alternativas basados en el conocimiento de los mecanismos de comunicación celular, mecanismos de señalización, así como las ventajas de la presencia de leucocitos los procesos de regeneración de tejidos. Dentro de la investigación en este tema novedoso, se busca comprender los fenómenos de destrucción y la recuperación de tejidos, por esta razón se empezó a estudiar y a utilizar el PRP, el cual es rico en factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus propiedades moduladoras y estimuladoras de la proliferación de las células derivadas de las células madre de origen mesenquimal (3). Durante más de 10 años existió falta de unificación de los criterios para clasificar los diferentes concentrados plaquetarios. Dohan-Ehrenfest y colaboradores en 2009 realizaron una clasificación para los distintos concentrados plaquetarios dividiéndolos en 4 familias dependiendo del contenido de leucocitos y la arquitectura de la fibrina (4,5). La clasificación comprendió dos grupos con dos divisiones, el primer grupo fue plasma rico en plaquetas puro (PRPP) y plasma rico en plaquetas y leucocitos (PRP-L), los cuales son una suspensión de plaquetas que se activa con diversos componentes de calcio para formar un gel de fibrina. El segundo grupo fue Fibrina rica en plaquetas pura (FRPP) y fibrina rica en plaquetas y leucocitos (FRP-L), la fibrina producida es de origen natural con una estructura más sólida (6). Lo relevante de este biomaterial como son plaquetas, leucocitos, y fibrina utilizados para

regeneración de tejido, es que todos los componentes se encuentran de manera natural en el organismo humano; en el caso particular de la FRP-L autóloga que no requiere de ningún aditivo la convierte en un proceso totalmente fisiológico (6). Se considera que la FRP-L contiene el 97 % de las plaquetas y el 50% de los leucocitos de la muestra original. Las plaquetas una vez activadas por la adición de calcio o de manera fisiológica como lo es el caso de la FRP-L, ambos liberan una gran cantidad de moléculas bioactivas, incluyendo proteínas específicas, factores de crecimiento (FC) derivados de plaquetas, factores de coagulación, moléculas de adhesión, citocinas/quimiocinas, factores angiogénicos capaces de estimular la activación de macrófagos, neutrófilos y células mesenquimales, además la presencia de leucocitos juega un papel importante en el proceso de cicatrización, contribuyendo a la fagocitosis de material necrótico y microorganismos previniendo así procesos infecciosos. El objetivo fue evaluar el desempeño entre plasma rico en plaquetas y fibrina rica en plaquetas y leucocitos (PRP-L) en la regeneración en úlceras vasculares.

Metodología

Grupos

Se organizan dos grupos de pacientes con úlceras vasculares de diferentes etiologías, a uno de los grupos compuesto por 3 pacientes se le aplica PRPP cada tercer día y a otro grupo de 3 personas con las mismas características se le aplica FRP-L por única vez hasta la eliminación fisiológica.

Cuantificación inicial de Factores de Crecimiento

Se extrae sangre total en sistema al vacío, para el grupo de PRPP, se extrae sangre en tubos con adenina citrato dextrosa (ACD) como anticoagulante y para el grupo de FRP-L se extrae sangre en sistema al vacío sin anticoagulante. Se cuantificaron los factores de crecimiento (FC) en las muestras de los pacientes de ambos grupos (FRP-L y PRP) por el método de inmunoensayo enzimático de la marca Quantikine® ELISA Human PDGF Immunoassay para el factor de crecimiento derivado de plaquetas y Human VEGF Immunoassay para el factor de crecimiento endotelial vascular. Se procedió según los protocolos de calibración del proveedor.

Obtención de muestras

A los pacientes del grupo que fue administrado con FRP-L se extrajo sangre en 4 tubos a cada paciente en

sistema al vacío sin anticoagulante marca BD®. Se mezclaron por inmersión cinco veces; posteriormente, se centrifugaron por 5 min a 1300 rpm, se incubaron a 37°C 5 min para completar la coagulación tanto de la fibrina como de paquete globular, posteriormente se extrae la fibrina con un aplicador estéril, lo cual permite que se desprenda fácilmente el cilindro de fibrina con los leucocitos adheridos a la fibrina. La FRP-L se deposita en una caja Petri estéril hasta su aplicación en las úlceras de manera tópica (Figura 1).



Figura 1. Protocolo para la elaboración de fibrina rica en Plaquetas y leucocitos (FRP-L).

La FRP-L no se retira hasta que la piel del mismo paciente la elimine posterior a la cicatrización (Figura 2).

Protocolo de Aplicación de FRP-L para cicatrización de úlceras vasculares



Figura 2. Aplicación de FRP-L y cicatrización de úlceras vasculares.

A los pacientes que se administró de manera tópica PRPP, se extrajo sangre en sistema al vacío en tubos de 7 mL con ACD como anticoagulante; posteriormente, se centrifuga a 1300 rpm por 5 min. En seguida, se extrae de la columna de plasma el tercio inferior correspondiente a PRP. Se activa con gluconato de calcio al 10% y se deja polimerizar. Se desprende de la caja Petri el coagulo de fibrina del PRPP y se aplica sobre la ulcera. Este procedimiento se aplica cada 3 días hasta la cicatrización y recuperación del tejido (Figura 3).



Figura 3.- Protocolo de aplicación de Plasma Rico en Plaquetas Pura (PRPP).

Se realizó el seguimiento terapéutico en cada caso para evaluar en todo momento de manera visual y preguntando a los pacientes las manifestaciones clínicas como inflamación, dolor, enrojecimiento y secreción purulenta.

Resultados

La cuantificación de los FC fue más alta en las muestras de FRP-L que la de PRPP. Aun cuando el promedio de la concentración de plaquetas en los participantes de ambos grupos fue muy similar (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de la cuantificación de los factores de crecimiento en los dos grupos

Grupo de pacientes con tratamiento a base de FRP-L					
Pacientes	Cuantificación #de Plaquetas/ mm ³ X10 ³	VEGF-C pg/mL		PDGF-CC pg/mL	
		4847	2459-6651	1281	695-1963
		Valores normales		Valores normales	
1	225	2365		324	
2	322	2198		231	
3	175	2549		523	
PROMEDIO	240	2370		259	

Grupo de pacientes con tratamiento a base de PRPP					
Pacientes	Cuantificación #de Plaquetas/ mm ³ X10 ³	VEGF-C pg/mL		PDGF-CC pg/mL	
		4847	2459-6651	1281	695-1963
		Valores normales		Valores normales	
1	200	1762		89	
2	235	1437		325	
3	328	1426		156	
PROMEDIO	254	1541		199	

El tiempo de cicatrización fue más rápido con FRP-L que con el PRPP. El proceso inflamatorio, enrojecimiento y proceso infeccioso no se presentó en ninguno de los dos grupos (Tabla 2).

Tabla 2. Tiempo de evolución de los pacientes por grupo y por biomaterial administrado. (* presentó infección con secreción purulenta)

6 casos de pacientes con úlceras vasculares tratadas con biomaterial autólogo			
GRUPO 1 FRP-L	TIEMPO DE CICATRIZACION	GRUPO 2 PRPP	TIEMPO DE CICATRIZACION
CASO 1	28 DIAS	CASO 1	38 DIAS
CASO 2	32 DIAS *	CASO 2	42 DIAS
CASO 3	25 DIAS	CASO 3	37 DIAS

Cabe mencionar que solo el paciente 2 del grupo de los FRP-L presentó infección con secreción purulenta, la cual se eliminó de inmediato haciendo solo asepsia con microdacyn antiséptico en aerosol. No presento más complicaciones y se le dieron nuevas indicaciones ya que su actividad laboral condicionó la infección.

Discusión

En nuestro estudio se evaluó la eficiencia entre los métodos FRP-L y PRPP, los resultados de los experimentos demostraron mayor eficiencia con FRP-L. La cuantificación de los factores de crecimiento por el método de inmunoensayo enzimático en las muestras obtenidas después del proceso de activación fue más alta para las muestras de FRP-L que para PRPP. Al evaluar los dos métodos se encontró que la FRP-L dio mejor resultado debido a que el tiempo de

regeneración de tejido y cicatrización fue más rápido y con menos complicaciones que el PRPP, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Mayol y col. en el 2018 al afirmar que la recuperación de las proteínas especializadas y leucocitos en el biomaterial lo hace más eficiente que otros biomateriales (8). La metodología para la obtención tanto de PRP y FRP-L requiere de estandarización y la compresión de la distribución de las plaquetas y los leucocitos después de la centrifugación a fin de obtener verdaderamente biomateriales de buena calidad, con un alto contenido de las moléculas bioactivas que están en el interior de los gránulos alfa de las plaquetas y que a su vez constituyen el 15% del total del contenido de las plaquetas (9). El PRP constituye una suspensión de FC, pero que carece de leucocitos constituyendo un PRPP, sin embargo, dentro de la clasificación de Dohan-Ehrenfest colaboradores. En el 2009 permite tener una alternativa que puede ser tan eficiente

como la FRP-L, este es el PRP-L (4). Al observar que la aplicación de la FRP-L da un promedio de 28 días en regeneración de tejido y cicatrización de herida con una sola aplicación en comparación del PRP que demostró tener las propiedades que tiene FRP-L con el inconveniente de que se debe aplicar cada 3 días para mantener la bioestimulación y lograr así el efecto esperado (5). Los resultados que se obtuvieron revelan la potencia regeneradora que posee el FRP-L, el cual se ve potenciado en sus propiedades regeneradoras por las biomoléculas obtenidas de manera fisiológica en comparación del PRPP o el PRP-L que requieren activación adicional con calcio, tal como lo propone en sus estudios Salgado-Peralva y col. en el 2018 (3). Aun cuando existen sistemas cerrados para la obtención de PRP y tubos sin anticoagulante para obtener FRP-L, se debe considerar que los materiales deben estar adaptados a la norma ISO 10993 para el uso clínico porque los tubos estándar contienen partículas de sílice que pueden producir citotoxicidad entre otros efectos adversos (9).

Conclusiones

La FRP-L ha demostrado mayor eficiencia en los procesos de cicatrización basado en la capacidad angiogénica y la promoción del desarrollo celular promovido por los factores de crecimiento y citoquinas liberadas de manera continua durante 27 días después de la aplicación. La regeneración de tejidos en úlceras con FRP-L fue más rápida que los casos tratados con PRPP. El efecto bactericida fue muy evidente ya que no presentaron reacciones adversas.

Literatura citada

Monclús Fuertes E, Velasco Velasco R, Gómez-Escolar Larrañagag L, González Peirona E. Our experience in the treatment of chronic ulcers by PRP-Vivostat. *Cir Plást Iberolatinoam*. 2009; 35(2): 141-148.

Martinez-Zapata M, Martí-Carvajal AJ, Solà I, Expósito J, Bolívar I, Rodríguez L, García J, Zaror C. Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2016; 5.

Salgado-Peralvo ÁO, Salgado-García Á, Arriba-Fuente L. Nuevas tendencias en regeneración tisular: fibrina rica en plaquetas y leucocitos. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac*. 2017; 39(2): 91-98.

Dohan-Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: From pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009; 27:158-67.

Dohan-Ehrenfest DM, Bielecki T, Jimbo R, Barbé G, del Corso M, Inchingolo F. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Curr Pharm Biotechnol*. 2012; 13:1145-52.

Arce González MA, Diaz Suarez AM, Diaz Hernández M, Hernández Moreno VJ. **Fibrina rica en plaquetas y leucocitos: biomaterial autólogo excelente para la regeneración tisular.** *Medicentro Electrónica*. 2018; 22(1): 19-26.

Mayol, M. **Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos en el tratamiento de defectos intra-óseos: Revisión Narrativa.** *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabilit Oral*. 2018; 11(1): 54-57.

Martinez Romero A, Ortega Sánchez JL, Hernández Ramos RM, Hernández de la Fuente JP, Cervantes Flores M, Urtiz Estrada N, Ruiz Vaca E, Alba Romero JJ. Standardization of the method to obtain therapeutic quality platelet-rich plasma. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2014; 6(4): 121-127.

Vera F, Reinod A, Guerrero L, Petit M. Bio-regeneración mamaria con membranas de fibrina técnica Dr. Choukroum. A propósito de un caso. *Revista Venezolana de Oncología*. 2018; 30(4): 1-6.

Riesgo Sanitario por la Presencia de Arsénico en Agua de Bebida en el Norte de México

¹Aurora Martínez Romero, ²José Luis Ortega Sánchez, ³Maribel Cervantes Flores,
¹Sandra Isabel Hernández González, ¹José de Jesús Alba Romero.

¹Facultad de Ciencias Químicas Unidad Gómez Palacio,
Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED), México.

²Unidad Regional de Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo.

³Facultad de Ciencias Químicas Unidad Durango, UJED.

*E-mail: quimicaaurora@hotmail.com; auroramtzr@gmail.com

Resumen

El agua es uno de los componentes fundamentales para la vida y salud del hombre. El arsénico (As) es un elemento tóxico que contamina en forma natural el agua de bebida. El As, en fase sólida puede solubilizarse y liberarse en agua subterránea, contaminando así el agua para consumo humano, por lo que, el objetivo de la presente revisión fue analizar el riesgo sanitario debido a la presencia de As en el agua de bebida. La exposición al agua arsenical causa un conjunto de manifestaciones que afectan casi todos los órganos. El hombre, para salvaguardar su salud requiere de agua realmente potable, este recurso es insuficiente y vulnerable, y es, por tanto, un problema de gran importancia socio-sanitaria que requiere atención por parte de las autoridades administrativas de cada entidad en el mundo.

Palabras clave: Arsénico, agua de bebida, agua subterránea, control.

Abstract

Water is one of the key components for life and human health. Arsenic (As) is a toxic element that naturally contaminates drinking water. As, in solid phase can be solubilized and released into groundwater, contaminating the drinking water, so the aim of this review was to examine the health risk due to the presence of as in drinking water. Water arsenic exposure causes a set of events that affect almost every organ. Man, to safeguard your health requires drinking water, this resource is insufficient and vulnerable, and is therefore a problem of great socio-health importance that requires care from administrative authorities of each entity in the world.

Key words: Arsenic, drinking water, groundwater, control.

Introducción

El arsénico (As) es un elemento natural de la corteza terrestre, ampliamente distribuido en todo el medio ambiente, presente en aire, agua y tierra, en su forma inorgánica es muy tóxico y contamina en forma natural el agua de bebida (Soria-de González, Silvina-Guber et al. 2009; Kato, Kumasaka et al. 2013; OMS 2018). El As inorgánico (iAs) es un carcinógeno y su exposición a través del agua de bebida y ciertos alimentos es un problema global de salud pública (Raqib, Ahmed et al. 2017; Pierce, Tong et al. 2019; Zwolak 2019). Sus efectos tras la exposición prolongada son la aparición de lesiones cutáneas y cáncer de piel (OMS 2018).

En algunas regiones del mundo, el agua subterránea puede contener gran concentración de As que han sido extraídas de depósitos minerales naturales. La arsina, un gas hídrico que es un hemolítico potente, se fabrica principalmente para la industria de semiconductores y se puede generar accidentalmente cuando los metales que contienen As entran en contacto con soluciones ácidas (Katsung 2007).

El As en fase sólida puede solubilizarse y liberarse en aguas subterráneas (Pilsner, Hall et al. 2012), que proveen de agua de consumo a la población provocando diversas patologías. Incluso, la especiación de As y la bioacumulación en los tejidos musculares de los peces se han investigado intensivamente en el ecosistema marino (Jia, Wang et al. 2018).

La Comarca Lagunera, es la región geográfica más afectada del Norte de México por el hidroarsenicismo. Aunque en forma mucho más controlada, el problema persiste hasta hoy en diferentes municipios (Ochoa-Reyes, Vidal-Lozano et al. 2009). En la Comarca Lagunera existe el riesgo de exposición crónica debido a la necesidad de los habitantes de consumir agua extraída de pozos que contienen As, lo cual tiene efectos adversos a la salud a corto o a largo plazo. Incluso, las áreas de cultivo de la región se ven afectadas por el riego de agua con As, en donde se cultiva jitomate, tomate, lechuga, melón, sandía, zanahoria, maíz, chile, calabaza, frijol, entre otros, dichos productos no solo son para autoconsumo sino se distribuyen en zonas aledañas a la región. El consumo por tiempo prolongado del agua de bebida con elevado contenido de As da lugar a una afección llamada hidroarsenicismo crónico regional endémico, caracterizada por trastornos cutáneos progresivos, enfermedades neoplásicas malignas, queratosis palmo-plantar, atrofia cutánea, conjuntivitis, astenia o trastornos neurológicos y

hematológicos, entre otros, que pueden coexistir con las lesiones extracutáneas. Por consiguiente, dada la necesidad de realizar estudios al respecto, el objetivo de la presente revisión fue analizar el riesgo sanitario debido a la presencia de As en el agua de bebida.

Antecedentes

En diversas partes del mundo, como Chile, Bangladesh, Taiwán, USA, etc., se han reportado problemas relacionados con el consumo de aguas subterráneas contaminadas con As, prevaleciendo síntomas respiratorios como tos, ruidos en el pecho y bronquitis crónica (Sepúlveda-Saa 2009). De hecho, en Bangladesh el As ha cobrado gran protagonismo desde que se descubrió, en los años 90's, que este elemento está ampliamente presente en agua de pozos. Desde entonces, se han logrado notables progresos, y el número de personas expuestas al As en niveles superiores a los permitidos por las normas nacionales de calidad del agua potable ha disminuido en alrededor de un 40% (OMS 2018).

En Brasil, existen pocos estudios que evalúen la contaminación por As del medio ambiente en las zonas mineras. En el Estado de Amapá, al Norte del país, en una operación de extracción y de procesamiento de Mn en la Serra do Navio, los acuíferos están contaminados por altos niveles de As presentes en los residuos industriales (Momoyo-Sakuma, Mello-De Capitani et al. 2010). También al Norte de Chile se ha encontrado asociación entre la exposición de As en agua potable y cáncer de riñón, factor de riesgo que ha prevalecido por más de 40 años (Ferreccio, Smith et al. 2013).

De la misma manera, al Sur de Portugal el Departamento de Salud Ocupacional realizan monitoreos de contaminación por metales entre los trabajadores mineros, en los que han encontrado una exposición permanente de Pb, Mn y As, mezcla tóxica que conlleva a efectos subclínicos como cáncer, genotoxicidad, efectos adversos sobre el sistema hematopoyético, hígado, riñón, piel y cerebro, neurotoxicidad, hipertensión, anemia, insuficiencia renal e interferencia con la producción de esperma, desordenes en el SNC y periférico (Serrazina, Lopes De Andrade et al. 2018). También en China, Taiwan, Pakistán y en varios países de América Latina (Argentina, Chile, Perú, México, El Salvador) por lo menos cuatro millones de personas beben permanentemente agua con niveles de As que ponen en riesgo su salud (por encima de 1 mg/L) (USEPA, 2012).

De igual manera, en Argentina en la población de Leales y Graneros en la provincia de Tucumán se relacionó el nivel de contaminación con la profundidad de los pozos y la presencia de signos dermatológicos. La determinación de As fue realizada por el método cuantitativo de Gutzei modificado. Se entrevistaron 122 individuos y se evaluaron los signos dermatológicos de arsenicismo. El 9,3% y 34,7% de 140 muestras de Leales y 95 de Graneros, respectivamente tienen niveles permitidos. Las concentraciones promedio en Leales fueron 0,112; 0,087 y 0,096 mg/L para la profundidad menor a 10 m; 11 a 25 m y >25 m, respectivamente. No se encontró diferencia entre las distintas profundidades. Las concentraciones promedio en Graneros fueron 0,163; 0,045; 0,405; 0,056 mg/L para los pozos <10; 11 a 25 m con concentraciones moderada y marcadamente elevadas y >25 m, respectivamente. Se encontraron diferencias entre la concentración de As y la profundidad de los pozos. El 12,4% de los 89 individuos examinados de Leales y el 39,4% de los 33 individuos de Graneros presentaron signos dermatológicos (Guber, Tefaha et al. 2009).

En Bangladesh, la población en riesgo habita un área cubierta por 560 pueblos con una concentración media de As de 0,20 mg/L y una máxima de 3,7 mg/L en aguas subterráneas. De 20,000 muestras analizadas de agua de pozo el 45% se encontró niveles de As por encima de 0,05 mg/L. En la mayor parte del agua de pozo se encontró que contenía As en forma de fuente arsenito y arseniato (Benbear, Tarozzi et al. 2013; Nahar, Inaoka et al. 2014). El As se encontró asociado con FeS₂. La OMS, instituye que la seguridad del agua de bebida, sanidad e higiene son fundamentales para la salud, estableciendo que el límite permisible de As en agua es 0.01 mg/L (OMS, 2018). La agencia de protección ambiental de EE. UU. (USEPA) y la Comunidad Económica Europea establecieron como límite permisible 0,05 mg/L de As en agua potable. La USEPA, clasifica al As como carcinógeno del grupo A y el Centro de Investigación sobre Cáncer lo incluye en el grupo I, indicando en ambos casos que el agente (o una mezcla que lo contenga) es carcinógeno para el ser humano (USEPA, 2012).

De igual manera, en California y Nevada millones de personas están expuestas al As en el agua potable aun en concentraciones relativamente bajas, se han observado concentraciones superiores a 200 mg/L, en donde la concentración global es <100 mg/L, y no se sabe si la relación dosis-respuesta con As-cáncer es verdaderamente lineal (Dauphine, Smith et al. 2013). Las investigaciones en México se han dirigido

principalmente a lugares donde se detectan los mayores problemas de intoxicación y/o epidemias. Uno de los casos más relevantes es el de Zimapán, Estado de Hidalgo, México, en donde, al alertarse de una epidemia de cólera en el país, se realizaron estudios biomédicos debido a la intoxicación crónica que determinó altos índices de As en agua, una de las principales medidas preventivas consiste en la adecuada potabilización del agua para su consumo humano. La tasa máxima permitida de As para el agua potable es de 0,01 mg/L según la NOM-250-SSA1-2014 de Salud ambiental y se ha demostrado que el agua potable que ingiere la población en Zimapán, en Hidalgo, no tiene la calidad que exige la NOM vigente (Flores, Armienta et al. 2009). En esa misma región, se determinó la presencia de As en pozos y en hortalizas de cultivo, encontrando en el agua en los diferentes pozos una concentración de 0,0599 a 0,1776 mg/L, que supera lo establecido por la NOM, en hortalizas no se encontró evidencia de la presencia de este metaloide (Caballero-Gutiérrez, Carrillo-Rodríguez et al. 2010).

En México, también se han reportado casos de contaminación de un pozo que distribuía agua contaminada con As con más de 6,000 ppb en un periodo de nueve años, 80% de los afectados (60% de la población total) mostró síntomas leves de envenenamiento, mientras que 20% mostró síntomas graves de envenenamiento por As contenido en el agua (Sepúlveda-Saa 2009). Las concentraciones más altas de As, en México, según referencias, se encuentran al Noroeste y Centro del país. La cuenca del Río Conchos, Chihuahua, comprende aproximadamente 64,000 Km², representando alrededor de 14% del área total de la cuenca del Río Bravo, y es uno de los sistemas ribereños más importantes del Norte de México. Durante siglos, el cauce del Conchos ha revitalizado el Río Bravo, que finalmente desemboca en el Golfo de México. Una vez que las aguas del Conchos se mezclan con el Río Bravo, se utilizan para satisfacer las necesidades de Texas, Coahuila, Tamaulipas y Nuevo León. En esta cuenca se presenta alto nivel de As en agua del subsuelo en los acuíferos de Meoqui y Jiménez, donde algunos pozos muestran niveles que rebasan lo permisible para agua potable (Sepúlveda-Saa 2009).

Generalidades del As

El As, es un semimetal solido en suelo, agua y aire (Sertel, Tome et al. 2012). El As, es un metaloide muy tóxico que se encuentra ampliamente distribuido en la corteza terrestre; ocupa el vigésimo lugar entre

los elementos más abundantes. Es un constituyente natural de ciertas rocas y formaciones minerales, como la FeAsS y minerales de sulfuro (Ochoa-Reyes, Vidal-Lozano et al. 2009). El As, que entra al medio ambiente no se destruye, únicamente cambia de estado de oxidación (Silva-Trejos 2008). A través del proceso de erosión, desintegración y disolución de las rocas contamina los mantos acuíferos, en donde se le encuentra como sales inorgánicas de arsenito [As (III)] en aguas subterráneas y arseniato [As (V)] en aguas superficiales, el primero es más tóxico (Mejía-Zamudio, Valenzuela-García et al. 2009; Ochoa-Reyes, Vidal-Lozano et al. 2009).

La transformación de los minerales arsenopiríticos se debe, principalmente, a las condiciones oxidantes del medio ambiente que les rodea, en respuesta natural a los cambios ambientales originados por la explotación de los minerales, así como al sistema de bombeo en la extracción del agua subterránea y a la presencia de aire y agua con O₂ disuelto que penetra al subsuelo. Se presenta en varias formas, a menudo combinados con otros elementos químicos. Cuando el As se combina con O₂, Cl₂ y S, que se conoce como iAs. En plantas y animales el As se combina con C e H₂ para formar compuestos orgánicos de As (Hurtado-Jiménez y Gardea-Torresdey 2006; Silva-Trejos 2008). Incluso, la exposición prolongada al iAs a través del agua potable perjudica la función del tejido adiposo (Zuo, Liu et al. 2019), porque disminuye la expresión de genes relacionados con la termogénesis y función mitocondrial, además de bloquear la expresión de genes que codifican la lipólisis. La química del As en medio acuoso es compleja y depende de varios factores, incluyendo pH y potencial redox. El As, es un elemento más o menos noble; es decir, se requieren condiciones de oxidación o reducción moderadas o altas para solubilizarlo (Mejía-Zamudio, Valenzuela-García et al. 2009).

Contaminación por As

La presencia de As en el agua subterránea de grandes extensiones territoriales constituye un problema de salud pública debido a su toxicidad. El peligro proviene de la extracción del agua mediante pozos localizados en zonas geológicas ricas en As y su uso tanto en actividades domésticas como agropecuarias (Navoni, De Pietri et al. 2012). La contaminación por As del agua potable puede ser resultado de procesos naturales o artificiales. La contaminación natural por lo general proviene principalmente de los depósitos de minerales o fluidos geotérmicos (Hurtado-Jiménez and Gardea-Torresdey 2006).

Además del efecto directo sobre el suelo, la contaminación puede extenderse hacia mantos de aguas superficiales, subterráneas, o reservorios de agua para consumo humano por lixiviación, si no es contenida adecuadamente (Gobbo-Santos y do Couto-Jacob 2009). La presencia de As en el agua por encima del umbral establecido la convierte en inapropiada para el consumo humano y para el funcionamiento de los ecosistemas. El agua llega a las viviendas a través de conexiones desde los pozos surgentes (Guber, Tefaha et al. 2009).

La presencia natural de As, en aguas superficiales y subterráneas en América Latina se asocia con vulcanismo terciario y cuaternario, aguas termales y fenómenos geotérmicos vinculados con el vulcanismo circumpacífico del llamado "Círculo de fuego del Pacífico" (Gobbo-Santos y do Couto-Jacob 2009). La presencia de agua contaminada por As adquiere mayor trascendencia en regiones con actividad agrícola y ganadera importante, ya que el agua no solo se utiliza para el abastecimiento de núcleos de población, sino también como agua de riego y para bebida del ganado (Montero-Campos, Quesada-Kimsey et al. 2010).

Los principales procesos artificiales de contaminación de As en agua potable son las actividades industriales (Gobbo-Santos y do Couto-Jacob 2009). A pesar de la incidencia de estos elementos en la salud y de su influencia en al menos nueve Estados del Noroeste, Centro y Sur de México, se han realizado pocas investigaciones de carácter hidrogeológico en cuencas y acuíferos regionales que permitan evaluar los controles físicos y químicos de iAs y F⁻, y otros elementos nocivos a la salud, en el agua subterránea (Ortega-Guerrero 2009). Existe el riesgo de exposición crónica debida al hábito de los pobladores de consumir el agua extraída de los pozos sin proporcionar algún tipo de tratamiento lo cual puede tener efectos adversos en su salud (Caballero-Gutiérrez, Carrillo-Rodríguez et al. 2010).

Biotransformación

Los efectos a la salud en la exposición de metales o combinaciones de ellos debido a exposición a metales del medio ambiente como aire, agua, dieta y como factor de riesgo ocupacional, esos metales se analizan en la orina, bioespecimen típico usado para identificar la concentración de metales o mezclas de estos debido a que en general son excretados por vía renal (Sanchez, Slavkovich et al. 2018).

La toxicidad del As depende de su forma química (Momoyo-Sakuma, Mello-De Capitani et al. 2010), diferenciándose dos grupos de compuestos: orgánicos e inorgánicos, la toxicidad del As depende del estado de oxidación, estructura química y solubilidad en el medio biológico. La escala de toxicidad del As decrece en el siguiente orden: arsina (H_3A_3) > iAs^{+3} > As^{+3} orgánico > iAs^{+5} > As^{+5} orgánico > compuestos arsenicales y As elemental. En pescados y mariscos, el As está presente básicamente en formas no tóxicas orgánicas, tales como arsenobetaina (AsB) y arsenocolina (AsC). Ambas son formas muy estables de As que no son metabolizados en el organismo después de la absorción y se eliminan directamente por vía urinaria (Momoyo-Sakuma, Mello-De Capitani et al. 2010). Al respecto, en China se han aislado compuestos de As de 120 peces del río Xiang de agua dulce que colinda con minas, AsIII, AsV, ácido monometilarsénico (MMA), dimetilarsénico (DMA), AsC y AsB se separaron y determinaron simultáneamente usando el método cromatografía líquida de alta resolución-espectrometría de masas por plasma de acoplamiento inductivo (HPLC-ICP-MS). La concentración media (\pm SD) del total de As (tAs) en el músculo de pescado seco fue de 0.748 ± 0.651 mg kg^{-1} . El AsB se encontró como compuesto predominante (Jia, Wang et al. 2018). También se ha observado la resistencia cromosomal y plasmídica hacia el As, que ha sido descrita en bacterias G (+), G (-) y *Archea* (Eppinger, Radnedge et al. 2012).

El As absorbido en su forma inorgánica es sometido a biometilación hepática, mediante metiltransferasas, a la forma de MMA y DMA, que es menos tóxico, este proceso facilita la eliminación del As por vía urinaria (Soria-de González, Silvina-Guber et al. 2009; Taylor, Li et al. 2017; Pierce, Tong et al. 2019).

Cuando se encuentra en los tejidos, el As ejerce sus efectos tóxicos mediante la unión a grupos sulfhidrilo de diversos sistemas enzimáticos, lo que inhibe su actividad. Son particularmente susceptibles las vías de oxidación del piruvato y el ciclo de Krebs, por lo que, se interrumpe la respiración celular. El As, fue uno de los primeros carcinógenos en identificarse; al parecer provoca alteraciones cromosómicas, debido a los efectos nocivos en las enzimas que participan en la replicación y reparación del ADN (Ochoa-Reyes, Vidal-Lozano et al. 2009).

Las tierras de Bangladesh, por haber sido regadas durante muchos años con agua con As, llegaron a contener 10 $\mu g/L$; actualmente, en estudios realizados en esas tierras a la luz de la relación entre la bioquímica de los folatos y la biotransformación del As, se ha encontrado que el déficit de folato de

la dieta disminuye la cantidad excretada de As como DMA (Pierce, Tong et al. 2019).

Farmacocinética y farmacodinamia del As en el organismo

Los compuestos de As solubles son bien absorbidos a través del aparato respiratorio y gastrointestinal. La absorción percutánea está limitada, pero puede ser importante clínicamente después de una gran exposición a compuestos concentrados de As. El As es un metaloide tóxico y carcinogénico, su forma inorgánica es más tóxica que la orgánica porque la mayor parte del iAs se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal, se metila principalmente en el hígado a los ácidos MMA y DMA, los cuales son excretados en la orina junto con residuos de iAs (Chen, Wu et al. 2013). Sharma, Kaur et al. 2017; Wei, Ye et al. 2017; Pierce, Tong et al. 2019). Al respecto, el As urinario se utiliza frecuentemente en estudios epidemiológicos y ocupacionales como indicadores de exposición reciente al As ya sea por ingestión o por inhalación (Serrazina, Lopes De Andrade et al. 2018).

Cuando la absorción diaria crónica es menor de 1000 μg de iAs soluble, aproximadamente 66% de la cantidad absorbida se excreta en la orina. Después de la ingestión recurrente, la vida media de eliminación se prolonga. El As se enlaza a grupos sulfhidrilo presente en tejidos queratinizados y, después del cese de la exposición, cabello, uñas y piel pueden contener grandes cantidades después de que el valor en la orina ha regresado a su concentración normal. Sin embargo, el As presente en cabello y uñas, como resultado de depósito externo, podría ser indistinguible del que se incorporó después de la absorción interna (Katsung 2007). De igual manera, se ha evaluado la exposición de As a través del alimento regado con agua potable con As y de las uñas de los pies (Cottingham, Karimi et al. 2013).

La interferencia con la función enzimática se puede originar a partir de la unión del grupo sulfhidrilo del As (III) o por sustitución de PO_4^{2-} . El iAs o sus metabolitos pueden causar estrés oxidativo, alterando la expresión genética e interferir con la traducción de señales celulares. Aunque un As (III), sobre una base molar, es por lo común de 2 a 10 veces más tóxico que el As (V), se sabe que ocurre inter- conversión *in vivo*, y el espectro completo de la toxicidad del As ocurre después de una exposición suficiente a cualquiera de las dos formas. Se sugiere que la forma trivalente de los metabolitos metilados pueden ser más tóxicos que los compuestos inorgánicos originales (Katsung 2007).

Las especies reactivas de O₂ inducidas por As pueden alterar un gran número de factores de transcripción como proteína activadora-1 (AP-1), factor de transcripción nuclear kappa B (NF-κB), factor de transcripción nuclear eritroide-2 (Nrf2) y otros. Estos factores de transcripción de respuesta al estrés participan en la respuesta temprana y la regulación de los genes diana tales como los genes proinflamatorios implicados en la defensa celular. Actualmente, se ha analizado al Se por inducir la activación de la vía del Nrf2, el cual disminuye la toxicidad del As (III) que afecta tejidos y órganos, incluyendo hígado, cerebro, testículos, corazón y sistema inmune, el Se tiene efecto sobre la toxicidad inducida por el As (III) modulando la activación de la ruta de señalización del estrés oxidativo en el retículo endoplásmico o la ruta del factor Nrf2, el Se a dosis bajas e incorporado a proteínas y enzimas tiene propiedades antioxidantes y protege a humanos y animales del riesgo de varias enfermedades, por lo que se vislumbra como terapia alternativa (Zwolak 2019).

Patologías provocadas por la exposición al As

La sensibilidad humana a los efectos tóxicos del As varía, probablemente debido a factores genéticos, metabólicos, dieta, estado de salud, sexo y edad, entre otros. Asimismo, el menor acceso a la atención médica oportuna hace que el estado de pobreza sea un factor de vulnerabilidad, lo que incrementa el riesgo de mortalidad (Navoni, De Pietri et al. 2012). Los síntomas inmediatos de intoxicación aguda por As incluyen vómitos, dolor abdominal y diarrea. Seguidamente, aparece entumecimiento u hormigueo en manos y pies o calambres musculares y, en casos extremos, la muerte (OMS 2018).

La exposición materna a metales tóxicos puede ser el resultado de la dieta, aire, agua para beber, exposición ocupacional y tabaquismo. Biológicamente, la exposición prenatal a metales es de concernir por una variedad de razones. La exposición a metales tóxicos *in útero* y durante la niñez puede resultar en efectos significativos de salud a individuos que cumulativamente manifestaron al daño de poblaciones. A pesar de la fuerte evidencia que indica los efectos adversos de la salud de metales a poblaciones susceptibles como en los recién nacidos, pocos programas de monitoreo y control han sido realizados (Sanders, Flood et al. 2012; Smith, Yunus et al. 2013). Recientemente, en Bangladesh se evaluó la asociación entre la exposición al As en la etapa prenatal e infantil contra la respuesta inmune humoral (Raqib, Ahmed et al. 2017), en donde se observó un incremento en la IgG e IgE en plasma y

una disminución de la IgG a los 9 años.

Los riesgos en la salud se asocian con la exposición a metales pesados, particularmente durante los periodos periconcepcional y prenatal (Smith, Yunus et al. 2013). A pesar de la evidencia de los efectos asociados perjudicialmente a la salud, no hay niveles biológicos adversos a As o Cd para mujeres embarazadas o la población en general (Sanders, Flood et al. 2012). La exposición crónica o arsenicosis resulta de beber agua con altos niveles de As durante un largo periodo de tiempo (5-20 años) (Caballero-Gutiérrez, Carrillo-Rodríguez et al. 2010).

La exposición al agua con As causa un conjunto de manifestaciones que afectan a casi todos los órganos. Los cambios en piel son una característica común, ya que el iAs se deposita en tejidos ricos en queratina, siendo los más comunes la hiperpigmentación e hiperqueratosis palmo-plantar (enfermedad del pie negro) (OMS 2018). El comienzo de los síntomas puede ocurrir a partir de los 5 años de exposición y las lesiones malignizarse, con un período de latencia que puede ser durante décadas. La exposición crónica al As causa, entre otras patologías, daño al miocardio, arritmias cardíacas y enfermedad vascular periférica, posible causa de gangrenas en extremidades inferiores de los individuos expuestos. El consumo crónico de agua con concentraciones de As superiores al valor de referencia dado por la OMS ha demostrado un aumento del riesgo de accidentes vasculares cerebrales, hipertensión arterial, aterosclerosis carotídea, enfermedades arteriales periféricas, mortalidad por infarto agudo de miocardio, enfermedades cardiovasculares en población pediátrica y diabetes mellitus tipo II, el As estimula rápidamente las enzimas NOX (NAD(P)H oxidasa) del endotelio: las NOX son grandes productoras de superóxido, que al contacto con el óxido nítrico (NO) del endotelio, lo inactiva; esto produce disfunción vasomotora y rigidez de los vasos, lo que colabora en el proceso de aterosclerosis, el NO tiene una función significativa en la reducción de la toxicidad por As (III) por la regulación del sistema de defensa antioxidante que regula eficientemente el estrés oxidativo (Singh, Indoliya et al. 2017). El hallazgo neurológico más frecuente es una neuropatía periférica (Soria-de González, Silvina-Guber et al. 2009). Además de cáncer de piel, la exposición prolongada al As también puede causar cáncer de vejiga y pulmón (OMS 2018).

Aunque no existen datos concluyentes, se sospecha que la ingestión de As podría aumentar el riesgo de cáncer (piel, hígado, tracto gastrointestinal, vejiga, riñón y sistema hematopoyético, neuropatía

periférica, cardiovasculares). La información de mortalidad por cáncer y su vinculación con la exposición ambiental al As es escasa, especialmente en lo que respecta a concentraciones de As en agua de bebida cercanas o inferiores a 100 µg/L (Navoni, De Pietri et al. 2012).

Arsénico usado como tratamiento contra el cáncer

El As_2O_3 puede servir como un potente sensibilizador radiante y puede incrementar el rango de curación de células malignas. Al respecto, se ha investigado el mecanismo contra cáncer de próstata del tratamiento combinado de As_2O_3 y radiación ionizada y se concluyó que esa combinación es una estrategia terapéutica potencial para cáncer de próstata dependiente e independiente de andrógenos (Hui-Wen, Yi-An et al. 2012). Aunque el As_2O_3 ha sido extensamente estudiado como tratamiento potencial antimieloma, las funciones precisas del As_2O_3 sobre las células de mieloma continúan en estudio (Qu, Du et al. 2012).

Métodos para determinar la concentración de As

Los métodos cuantitativos para determinar As en las cantidades permitidas en agua potable utilizan la técnica de absorción atómica (AA) con generador de hidruros. Se utiliza una longitud de onda de 193,7 nm con lámpara de deuterio para corrección de radiación de fondo (Silva-Trejos 2008). La AA permite llevar a cabo un análisis cualitativo y cuantitativo de entre 70 y 80 elementos. El límite de detección para muchos de estos elementos es de menos de una parte por mil millones. La AA puede estar basada en la medición de absorción, emisión o fluorescencia. Según la espectroscopia de emisión atómica (ICP-AES), con su equipo para detección simultánea de multi-elementos, reporta la presencia de As con un límite de detección de 0.006 mg/L de As en agua. La AA es la que más se utiliza para detección de As, en la cual es necesario llevar a la muestra a un estado de vapor atómico. Este proceso, conocido como atomización, consiste en volatizar la muestra y descomponerla en sus átomos y quizá algunos iones gaseosos. Para la atomización de la muestra que se van a analizar por AA se utilizan principalmente la atomización a la flama y en horno. Los elementos que se pueden determinar con esta técnica son: As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Te y Sn (Caballero-Gutiérrez, Carrillo-Rodríguez et al. 2010).

En la AA con atomización en flama, la radiación del elemento que interesa, cuya fuente de luz suele ser una lámpara de cátodo hueco, se dirige a través de

la flama que contiene el gas atómico. La solución del analito se nebuliza por medio de un atomizador o nebulizador en finas gotitas y se lleva a la flama. El disolvente de las gotas se evapora de inmediato y las partículas de sal se descomponen en átomos, iones y electrones. Los átomos de la muestra absorberán la radiación que emita el mismo átomo en la lámpara de cátodo hueco, con lo que se atenúa la energía de la fuente. Mediante un monocromador se separa la línea espectral del elemento que interesa de cualquier otra radiación que venga de la fuente o de la flama. La energía radiante de la fuente se transforma en corriente eléctrica mediante un tubo fotomultiplicador.

La AA electrotermica y en flama solo son técnicas cuantitativas dado que, para cada elemento, se debe utilizar una lámpara específica de cátodo hueco. El análisis cuantitativo basado en la ley de Beer para el análisis de absorción molecular se aplica igualmente a la absorción atómica. Este método es bastante selectivo debido a que las líneas que emite la lámpara de cátodo hueco son muy finas (0,002 a 0,005 nm). En condiciones normales, la AA en flama puede dar desviaciones estándar mínimas. La técnica de espectrometría de absorción atómica de muestras sólidas en horno de grafito con fuente continua de alta resolución (HR-CS GFAAS) para el análisis químico elemental cuantitativo de nanomateriales es útil para la determinación directa de As en muestras sólidas de suelo (Schneider, Cadornim et al. 2018). En un estudio realizado en Bangladesh se utilizó el método ICP-MS para la determinación de elementos urinarios como As, Ba, Cd, Co, Cs, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr, Tl, W, Zn. En dicho análisis se encontró asociación significativa ($p < 0.001$) entre As-Mo-W y nivel bajo de As en agua (Sánchez, Slavkovich et al. 2018).

Alternativas de solución

Respecto al agua subterránea la OMS propone sustituir las fuentes de abastecimiento con elevados niveles de As por fuentes de abastecimiento con bajos niveles de As y microbiológicamente seguras; agua de lluvia o agua superficial debidamente tratadas. Reservar el agua con nivel bajo de As para beber, cocinar y de riego. Identificar los pozos diferentes colores según su concentración de As. Mezclar agua con bajos niveles de As con agua de concentración más elevada a fin de conseguir más cantidad de agua con un nivel de concentración aceptable. Instalar sistemas de eliminación del As. Aplicar las tecnologías que permiten eliminar el As como oxidación, coagulación-precipitación,

absorción, intercambio de iones y diversas técnicas de membranas (OMS 2018).

En el Laboratorio de la Universidad Tecnológica Nacional también se han probado métodos electroquímicos consistentes en la liberación de partículas coloidales de $\text{Al}(\text{OH})_3$, partiendo de la erosión de electrodos de Zn o Al, y se obtuvieron rendimientos superiores al 99% en la remoción del As, aunque se presentaron problemas de contaminación del agua por impurezas asociadas al material de los electrodos. Asimismo, se ha intentado tratar las aguas arsenicales por electrodiálisis, pero no se han encontrado membranas con poros de tamaño adecuado para eliminar selectivamente el As. Actualmente, dentro de las tecnologías utilizadas para la remoción de As (III, V) se utilizan minerales naturales con alto contenido de Fe_2O_3 y Mn como el MnO_2 granular (Wu, Zhang et al. 2017).

El Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria (CEPIS) desarrolló un polvo compuesto por una mezcla de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ y arcilla activada que, agregado al agua, elimina el As con una eficiencia variable que depende de las características fisicoquímicas del agua. En aguas arsenicales de la provincia de Tucumán, dicho producto mostró una eficiencia variable, de 45 a 65%, según la procedencia del agua. Con el objetivo de simplificar el tratamiento de las aguas arsenicales, en ese artículo se describen la síntesis y resultados preliminares de la aplicación de un coloide a lumínico que, agregado directamente al agua, pueda lograr una eliminación total del As, cualquiera que sea la naturaleza del agua y el estado de oxidación del metaloide.

En un estudio realizado en Bangladesh y Vietnam se analizó la concentración de Ba, Mg, Ca, Sr y As en agua potable de pozo, orina, uñas y cabello, con un compuesto nuevo absorbente basado en un compuesto hidrotalcita Mg-Fe: $[\text{Mg}(\text{II})_4\text{Fe}(\text{III})_2(\text{OH})_{12}]^{2+}[\text{NO}_3\text{xCO}_3\cdot\text{zH}_2\text{O}]^{2-}$ (MF-HT) para la remediación de As y Ba en agua potable de pozo (Kato, Kumasaka et al. 2013), encontrando correlación significativa entre el nivel de As y Ba del agua potable con la concentración en orina, uña y cabello. En Bangladesh, donde 20 millones de personas corren el riesgo de beber agua de pozos contaminados con As se han implementado las siguientes alternativas para consumo de agua potable a bajo costo: (a) pozos profundos libre de As, (b) cosecha de agua de lluvia, (c) filtros en los hogares para eliminar el As, (d) filtros comunitarios para eliminación de As, (e) tuberías que proporcionen agua de río, (f) filtros de arena que eliminan

contaminantes de agua superficial, (g) excavación superficial de pozos, y (h) evitar consumo de agua de pozos profundos (Inauen, Tobias et al. 2013). De la misma manera se ha implementado un método para el tratamiento de agua de consumo humano contaminada con As utilizando nanopartículas magnéticas de Fe_2O_3 para adsorber al contaminante y, posteriormente ser removidas aplicando campos magnéticos externos (Abid, Kanematsu et al. 2013).

Según, el Sistema descentralizado de agua potable y alcantarillado de Gómez Palacio, Durango (SIDEAPA) confirmó que al menos seis de sus 52 pozos están por encima de la NOM en cuanto a niveles de As, el muestreo se realizó en 45 de los 52 pozos que tiene SIDEAPA, 36 en zona urbana y 16 en rural. Incluso, a nivel mundial se reporta que en los pozos analizados en diversas investigaciones realizadas en diferentes poblaciones muestran niveles superiores al límite establecido por la OMS, USEPA y la NOM en México, como los pozos urbanos 4A, 14 y 34 están entre 0.026 y 0.029 mg/L. El SIDEAPA recibió plantas potabilizadoras para remoción de As a fin de impulsar obras de infraestructura que permitan mejorar el abasto y calidad del agua (CONAGUA 2015). Actualmente, en la ciudad de Lerdo, Durango se desarrollan trabajos de instalación de filtros contra el As en pozos profundos que forman parte de la red de abastecimiento, de zona urbana y rural, cumpliendo así ampliamente la actual NOM en cuanto a la presencia de As en el agua potable (SAPAL 2017).

Conclusión

El daño al que se expone la población es inminente ante el suministro de agua potable con As; sin embargo, es posible evitar ese riesgo sanitario, otorgando a la población agua potable libre de As. Se deben de implementar programas de monitoreo y vigilancia epidemiológica para suministrar a la población el vital líquido libre de este metaloide. De hecho, cabe mencionar que la Comarca Lagunera, se caracteriza por ser una zona árida en donde la carencia de agua e insuficientes redes de provisión de agua potable obliga a que, la mayoría de sus poblaciones se vean en la necesidad de consumir agua de pozo, lo que conlleva a mayor peligro de exposición crónica al As en el agua para beber, indicando mayor riesgo sanitario de afecciones a la salud. En nuestra región, el presidente municipal reconoce la problemática en la extracción de agua, el abatimiento de los mantos freáticos que obliga a perforar a mayor profundidad, por lo que pretende adoptar filtros intradomiciliarios. El hombre, para salvaguardar su salud requiere de

agua realmente potable, este recurso es insuficiente y vulnerable, y es, por tanto, un problema de gran importancia sociosanitaria que requiere atención por parte de las autoridades administrativas de cada entidad en el mundo.

Literatura citada

- Abid, A. D., M. Kanematsu, et al. (2013). "Arsenic removal from water using flame-synthesized iron oxide nanoparticles with variable oxidation states." *Aerosol Sci Technol* 47(2): 169-176.
- Benbear, L., A. Tarozzi, et al. (2013). "Impact of a Randomized Controlled Trial in Arsenic Risk Communication on Household Water-Source Choices in Bangladesh." *J Environ Econ Manage* 65(2): 225-240.
- Caballero-Gutiérrez, P. U., J. C. Carrillo-Rodríguez, et al. (2010). "Presencia de arsénico en pozos y en cultivos en Oaxaca, México." *Agronomía mesoamericana* 21(1): 177-184.
- Chen, Y., F. Wu, et al. (2013). "Arsenic exposure from drinking water, arsenic methylation capacity, and carotid intima-media thickness in Bangladesh." *Am J Epidemiol* 178(3): 372-381.
- CONAGUA (2015). "Recibe Gómez Palacio dos plantas para remoción de arsénico." 21 junio 2015. <https://www.elsiglodetorreon.com.mx/noticia/1126406.recibe-gp-dos-plantas-para-remocion-de-arsenico.html>
- Cottingham, K. L., R. Karimi, et al. (2013). "Diet and toenail arsenic concentrations in a New Hampshire population with arsenic-containing water." *Nutr J* 12: 149.
- Dauphine, D. C., A. H. Smith, et al. (2013). "Case-control study of arsenic in drinking water and lung cancer in California and Nevada." *Int J Environ Res Public Health* 10(8): 3310-3324.
- Eppinger, M., L. Radnedge, et al. (2012). "Novel plasmids and resistance phenotypes in *Yersinia pestis*: unique plasmid inventory of strain java 9 mediates high levels of arsenic resistance." *PLoS ONE* 7(3): 1-10.
- Ferreccio, C., A. H. Smith, et al. (2013). "Case-control study of arsenic in drinking water and kidney cancer in uniquely exposed Northern Chile." *Am J Epidemiol* 178(5): 813-818.
- Flores, E., A. Armienta, et al. (2009). "Tratamiento de agua para consumo humano con alto contenido de arsénico: estudio de un caso en Zimapán Hidalgo-México." *Información Tecnológica* 20(4): 85-93.
- Guber, R. S., L. Tefaha, et al. (2009). "Contenido de arsénico en el agua de consumo en Leales y Graneros (Provincia de Tucumán - Argentina)" *Acta Bioquím Clín Latinoam* 43(2): 201-207.
- Hui-Wen, C., C. Yi-An, et al. (2012). "Arsenic trioxide enhances the radiation sensitivity of androgen-dependent and -independent human prostate cancer cells." *PLoS ONE* 7(2): 1-11.
- Hurtado-Jiménez, R. and J. L. Gardea-Torresdey (2006). "Arsenic in drinking water in the Los Altos de Jalisco region of Mexico." *Rev Panam Salud Publica* 20(4): 236-247.
- Inauen, J., R. Tobias, et al. (2013). "Predicting water consumption habits for seven arsenic-safe water options in Bangladesh." *BMC Public Health* 13: 417.
- Jia, Y., L. Wang, et al. (2018). "Species-specific bioaccumulation and correlated health risk of arsenic compounds in freshwater fish from a typical mine-impacted river." *Sci Total Environ* 625: 600-607.
- Kato, M., M. Y. Kumasaka, et al. (2013). "Comparison of Barium and Arsenic Concentrations in Well Drinking Water and in Human Body Samples and a Novel Remediation System for These Elements in Well Drinking Water." *PLoS One* 8(6): e66681.
- Katsung, B. (2007). *Farmacología básica y clínica. México, Manual Moderno.*
- Mejía-Zamudio, F., J. L. Valenzuela-García, et al. (2009). "Adsorción de arsénico en zeolita natural pretratada con óxidos de magnesio." *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25(4): 217-227.
- Momoyo-Sakuma, A., E. Mello-De Capitani, et al. (2010). "Arsenic exposure assessment of children living in a lead mining area in Southeastern Brazil." *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro* 26(2): 391-398.
- Montero-Campos, V., J. Quesada-Kimsey, et al. (2010). "Determinación de arsénico en abastecimientos de agua para consumo humano de la provincia de Cartago, Costa Rica." *Acta méd. costarric* 52(2): 96-101.

- Nahar, M. N., T. Inaoka, et al. (2014). "Arsenic contamination in groundwater and its effects on adolescent intelligence and social competence in Bangladesh with special reference to daily drinking/cooking water intake." *Environ Health Prev Med* 19(2): 151-158.
- Navoni, J. A., D. De Pietri, et al. (2012). "Riesgo sanitario de la población vulnerable expuesta al arsénico en la provincia de Buenos Aires, Argentina." *Rev Panam Salud Publica* 31(1): 1-8.
- NOM (2014). "Agua para uso y consumo humano." NOM-250-SSA1-2014. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5356607&fecha=15/08/2014
- Ochoa-Reyes, J., A. Vidal-Lozano, et al. (2009). "Arsenicismo subagudo y crónico en una población rural." *Dermatología Rev Mex* 53(2): 63-69.
- OMS. 2018. "Arsénico." 15 febrero 2018. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>
- Ortega-Guerrero, M. A. (2009). "Presencia, distribución, hidrogeoquímica y origen de arsénico, fl uoruro y otros elementos traza disueltos en agua subterránea, a escala de cuenca hidrológica tributaria de Lerma-Chapala, México." *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 26(1): 143-161.
- Pierce, B. L., L. Tong, et al. (2019). "A missense variant in FTCD is associated with arsenic metabolism and toxicity phenotypes in Bangladesh." *PLoS Genet* 15(3): e1007984.
- Pilsner, J. R., M. N. Hall, et al. (2012). "Influence of prenatal arsenic exposure and newborn sex on global methylation of cord blood DNA." *PLoS ONE* 7(5): 1-10.
- Qu, X., J. Du, et al. (2012). "Arsenic trioxide exerts antimyeloma effects by inhibiting activity in the cytoplasmic substrates of histone deacetylase 6." *PLoS ONE* 7(2): 1-8.
- Raqib, R., S. Ahmed, et al. (2017). "Humoral Immunity in Arsenic-Exposed Children in Rural Bangladesh: Total Immunoglobulins and Vaccine-Specific Antibodies." *Environ Health Perspect* 125(6): 067006.
- Sanchez, T. R., V. Slavkovich, et al. (2018). "Urinary metals and metal mixtures in Bangladesh: Exploring environmental sources in the Health Effects of Arsenic Longitudinal Study (HEALS)." *Environ Int* 121(Pt 1): 852-860.
- Sanders, A. P., K. Flood, et al. (2012). "Towards prenatal biomonitoring in north Carolina: assessing arsenic, cadmium, mercury, and lead levels in pregnant women." *PLoS ONE* 7(3): 1-7.
- SAPAL (2017). "Colocan filtros en pozos de Lerdo para evitar arsénico." 10 diciembre 2017. <https://www.elsiglodedurango.com.mx/noticia/925580.colocan-filtros-en-pozos-de-lerdo-para-evitar-arsenico.html>
- Schneider, M., H. R. Cadorim, et al. (2018). "Determination of arsenic in agricultural soil samples using High-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis." *Talanta* 188: 722-728.
- Sepúlveda-Saa, R. (2009). "El arsénico en la contaminación de aguas subterráneas." *CIENCIA UANL* 12(3): 239-244.
- Serrazina, D. C., V. Lopes De Andrade, et al. (2018). "Biomarkers of exposure and effect in a working population exposed to lead, manganese and arsenic." *J Toxicol Environ Health A* 81(19): 983-997.
- Sertel, S., M. Tome, et al. (2012). "Factors determining sensitivity and resistance of tumor cells to arsenic trioxide." *PLoS ONE* 7(5): 1-10.
- Sharma, S., I. Kaur, et al. (2017). "Assessment of arsenic content in soil, rice grains and groundwater and associated health risks in human population from Ropar wetland, India, and its vicinity." *Environ Sci Pollut Res Int* 24(23): 18836-18848.
- Silva-Trejos, P. (2008). "Validación de la metodología para determinación cuantitativa de arsénico en aguas potables por generación de hidruros." *Tecnología en Marcha* 21(2): 25-29.
- Singh, P. K., Y. Indoliya, et al. (2017). "Nitric oxide mediated transcriptional modulation enhances plant adaptive responses to arsenic stress." *Sci Rep* 7(1): 3592.
- Smith, A. H., M. Yunus, et al. (2013). "Chronic respiratory symptoms in children following in utero and early life exposure to arsenic in drinking water in Bangladesh." *Int J Epidemiol* 42(4): 1077-1086.
- Soria-de González, A., R. Silvina-Guber, et al. (2009). "Alteraciones bioquímicas en individuos expuestos al arsénico en el agua de bebida en Tucumán, Argentina." *Acta Bioquím Clín Latinoam* 43(4): 611-618.

Taylor, V. F., Z. Li, et al. (2017). "Distinct arsenic metabolites following seaweed consumption in humans." *Sci Rep* 7(1): 3920.

USEPA. (2012). "Improving conservation practices programming to protect water quality in agricultural watersheds: Lessons learned from the National Institute of Food and Agriculture-Conservation Effects Assessment Project. United States Environmental Protection Agency." *Journal of Soil and Water Conservation* 67(5): 122A-127A.

Wei, B. G., B. X. Ye, et al. (2017). "Blood Pressure Associated with Arsenic Methylation and Arsenic Metabolism Caused by Chronic Exposure to Arsenic in Tube Well Water." *Biomed Environ Sci* 30(5): 334-342.

Wu, K., J. Zhang, et al. (2017). "Removal of arsenic(III,V) by a granular Mn-oxide-doped Al oxide adsorbent: surface characterization and performance." *Environ Sci Pollut Res Int* 24(22): 18505-18519.

Zuo, Z., Z. Liu, et al. (2019). "Prolonged inorganic arsenic exposure via drinking water impairs brown adipose tissue function in mice." *Sci Total Environ* 668: 310-317.

Zwolak, I. (2019). "The Role of Selenium in Arsenic and Cadmium Toxicity: an Updated Review of Scientific Literature." *Biol Trace Elem Res*.

INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS

Perfil de Ingreso

Conocimientos básicos e interés en las áreas de: Química, Física, Matemáticas y Biología.

Ser creativo y observador, capacidad de síntesis y análisis crítico, afinidad y gusto por la investigación y el trabajo en laboratorio.

Ser responsable, perseverante, propositivo y tener interés por el mejoramiento sociocultural y económico.

Perfil de Egreso

Controlar, diseñar y analizar proceso fisicoquímicos y biológicos en alimentos.

Desarrollar tecnología propia para el procesamiento, conservación y empaques de alimentos.

Investigación y desarrollo de nuevos productos alimenticios.

MICROBIOLOGÍA

(Clínica, Veterinaria, Vegetal)



*"Nada es tan divertido como un cambio total de ideas"
Lawrence Sterne (1713-1768); novelista británico.*

Aislamiento e identificación de estafilococos multirresistentes presentes en canarios (*Serinus canaria*)

Erick Sierra Campos^{1*}, Claudia Avitia Domínguez², Alfredo Téllez Valencia², Marian Ramos Rivera¹, Melissa Fierro Loera¹, Norma Lizeth Soriano Oviedo¹, Erica Karime Ventura García¹ y Mónica Andrea Valdez Solana^{1*}.

¹Laboratorio A de investigación, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Dgo. México.

²Facultad de Medicina y Nutrición, Universidad Juárez del Estado de Durango, Av. Universidad y Fanny Anitúa S/N Durango, México.

*Email: ericksier@gmail.com; valdezandyval@gmail.com

Resumen

Este estudio describe la presencia de cepas multirresistentes en canarios del aviario la Güera localizado en León, Guanajuato, México. Los antibiogramas de las cepas aisladas mostraron que los microorganismos multirresistentes encontrados en las 109 muestras obtenidas fueron *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus cohnii subsp cohnii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus schleiferi subespecie schleiferi*. *Staphylococcus sciuri* presenta multirresistencia a 16 antibióticos y seis aislamientos a 11 antibióticos. Sin embargo, estudios adicionales son necesarios para evaluar los potenciales riesgos que pueden presentar los humanos y otros animales a la microflora de estas aves.

Palabras clave: canarios, estafilococos, *Staphylococcus sciuri*, multirresistencia

Abstract

This study describes the presence of multi-resistant strains in canaries of the La Güera aviary located in Leon, Guanajuato, Mexico. The antibiograms of the isolated strains showed that the multi-resistant microorganisms found in the 109 samples obtained were *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus cohnii subsp. cohnii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus schleiferi subespecie schleiferi*. *Staphylococcus sciuri* presents multi-resistance to 16 antibiotics and six isolates to 11 antibiotics. However, additional studies are needed to evaluate the potential risks that humans and other animals may present to the microflora of these birds.

Key words: canaries birds, *Staphylococci*, *Staphylococcus sciuri*, multiresistance

Introducción

Los estafilococos son cocos anaerobios facultativos, Gram positivo, catalasa positiva que se agrupan dentro de la familia *Micrococcaceae*. Este género tiene al menos 38 diferentes especies descritas y se distribuyen en dos clases principales; coagulasa positiva (como *Staphylococcus aureus*) y estafilococos coagulasa negativa (CNS) como *Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, entre otros. Ellos son frecuentemente parte de la flora bacteriana normal de la piel y las mucosas del tracto respiratorio, urogenital y alimentario superior de mamíferos y aves. Por tanto, los estafilococos están ampliamente distribuidos entre los animales y bajo ciertas circunstancias en los humanos por contacto directo (piel con piel), o también indirectamente por el contacto con las excreciones que contienen estafilococos, como la saliva, o los aerosoles liberados durante el estornudo y la tos.

En las aves, se asume que los *Staphylococcus* spp son parte de la microflora normal de los psitácidos (Koski MA, 2002) y, por tanto, se sugiere que los cultivos de muestras positivas para estos microorganismos deben ser interpretados con precaución (Fudge AM, 2001). Así mismo, los estafilococos desempeñan una función prominente en la microflora respiratoria y dermatológica de otros tipos de aves. Algunas especies se han aislado de pollos que incluyen *Staphylococcus hyicus*, *S. gallinarum*, *S. arlettae*, *S. chromogenes*, *S. xylosus* y *S. epidermidis* (Kawano J y cols., 1996). Mientras que diversas especies de *Staphylococcus* spp han sido aisladas de la cavidad nasal de avutardas e incluyen a *S. auricularis*, *S. xylosus*, *S. simulans*, *S. saprophyticus*, *S. hyicus*, *S. cohnii* y *S. sciuri* (Silvanose CD y cols., 2001).

Adicionalmente, los miembros del grupo de *Staphylococcus sciuri* están ampliamente distribuidos en la naturaleza y ellos se han aislado de una gran variedad de animales de granja, mascotas y animales silvestres (Hauschild T y Schwarz S, 2003; Stepanovic S y cols., 2001). Este grupo está conformado de varias subespecies; *Staphylococcus sciuri subsp. carnaticus*, *Staphylococcus sciuri subsp. rodentium*, *Staphylococcus sciuri subsp. sciuri*, *Staphylococcus sciuri subsp. lentus* y *Staphylococcus vitulinus* (Webster JA y cols., 1994). Los miembros de las especies de *Staphylococcus sciuri* son habitantes comunes de la piel de roedores, insectívoros, rumiantes y ungulados, y rara vez han sido asociados con enfermedades en humanos y animales.

Sin embargo, es bien conocido que *S. sciuri* posee secuencias relacionadas con *mecA*, el cual es el gen responsable de la resistencia a meticilina (Couto I y cols., 1996). Por esta razón se considera que la resistencia antimicrobiana es una característica común entre los aislados de *S. sciuri* debido a diversos plásmidos pequeños de resistencia aislados de *S. sciuri* que han sido reportados (Werckenthin C y cols., 2001).

Aunque generalmente se piensa que los patógenos son específicos del huésped, las especies de estafilococos son capaces de colonizar e infectar a múltiples huéspedes de animales. Por ejemplo, *Staphylococcus sciuri* ha sido asociado con roedores y perros (Stepanovic S y cols., 2001). Sin embargo, algunas especies son también oportunistas y pueden causar serias enfermedades de la piel y en otros tejidos y cavidades corporales (Kloos WE y Musselwhite MS, 1975). Aunque los CNS están principalmente asociados a los animales, se estima que ellos constituyen del 0.79 al 4.3% de los aislamientos de muestras clínicas (Guirguitzova BD y cols., 2002). Por tanto, estas especies han recibido renovada atención con respecto a su importancia médica.

Es importante mencionar que investigadores de la Universidad de Pennsylvania de Estados Unidos han observado un aumento en la resistencia de especies de CNS, las cuales se consideraban susceptibles a los antibióticos en general, sin embargo, en el 2012, ellos observaron que el 14% de todos los aislados de *S. schleiferi* fueron resistentes a eritromicina, lo cual corresponde a un aumento del 9% con respecto al 2005; mientras que el 16% de los aislamientos fueron resistentes a tetraciclina, un incremento del 6% con respecto al 2005 y notablemente, un 14% de los aislamientos fueron resistentes a la mezcla trimetoprim-sulfametoxazol, para los cuales no existía resistencia reportada en el 2005. Estos datos sugieren que el aumento en la resistencia a los antibióticos limita las opciones de tratamiento para las infecciones de *S. schleiferi* en animales (Davis MF y cols., 2013). *S. schleiferi* es dividido en dos subespecies, subsp. *schleiferi* (coagulasa negativa) y subsp. *coagulans* (coagulasa positiva), las cuales presentan una distribución muy similar en animales (Cain, 2013). Estos microorganismos causan otitis o pioderma en perros y rara vez han sido aislados de gatos y aves (Cain, 2013; Briscoe JA y cols., 2009).

En México ha crecido la importancia comercial de las aves pequeñas. Sin embargo, se conoce muy

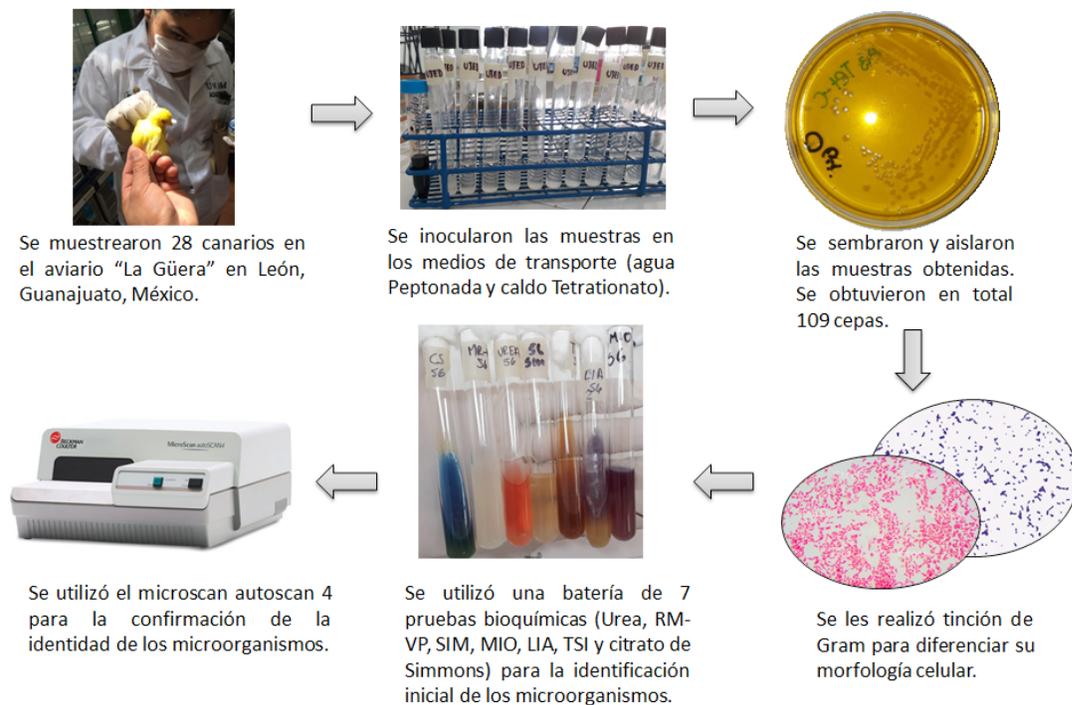


Fig. 1. Diagrama de flujo que muestra como fueron procesadas las muestras colectadas

poco sobre la microbiota presente en los animales de los principales aviarios del país. Por tanto, para conocer la incidencia de cepas multirresistentes de *Staphylococcus* spp presentes en canarios (*Serinus canaria*) se realizó el presente estudio en el aviario La Güera.

Materiales y Métodos

Especies de estudio

Se realizó el muestreo de 28 canarios de las áreas de reproducción, voladera, canto y cuarentena del aviario La Güera, ubicado en León Guanajuato. Las muestras tomadas fueron de pico, cloaca y heces frescas y colocadas en medios de transporte Stuart, agua peptonada y caldo tetrationato. Se transportaron en frío y posteriormente las muestras colocadas en agua peptonada se incubaron por 24 horas a 28 °C, mientras que las muestras en caldo tetrationato se incubaron a 37 °C ambos para realizar la siembra posterior en agar Sabouraud, papa dextrosa, agar sangre y agar Sal y manitol (Fig. 1).

Identificación clásica

La identificación clásica se realizó hasta género con el uso de una batería con siete pruebas bioquímicas (Rojo de Metilo-Vogües Proskauer (RM-VP), Citrato de Simmons (CS), Motilidad, indol, ornitina (MIO),

Triple azúcar Hierro (TSI), Agar lisina hierro (LIA), Caldo urea (UREA) y Sulfuro, indol, motilidad (SIM)) (Fig. 1).

Identificación automatizada

La confirmación de la identificación se realizó con el equipo MicroScan 4.0 ubicado en el laboratorio de microbiología del hospital Francisco Chávez del ISSSTE, Unidad Torreón, Coahuila. La metodología se describe brevemente, se realizó la técnica de tinción de Gram para seleccionar las placas a utilizar, para cocos y bacilos Gram positivos fue la placa P033, mientras que, para cocos y bacilos Gram negativos se utilizó la placa NC68. Con la vara de inoculación se tomó la colonia a identificar previamente aislada y con buen crecimiento y se diluyó en la solución de agua estéril, posteriormente se inocularon los diferentes pozos de la microplaca con esta dilución de cepa y se incubaron por 24 horas a 35 ± 2°C. Al finalizar la incubación se adicionaron los reactivos reveladores y se leyó en el equipo.

Resistencia a antibióticos

La placa P033 para Gram positivos contiene el antibiograma para determinar la resistencia a los antibióticos; amox/a clav, Amp/sulbactam, Ampicilina, Ceftriaxina, Ciprofloxacina, Cilindamicina, Daptomicina, Eritromicina, Estrep.

Sinerg, Gent. Sinerg, Gentamicina, Cilindamicina, Levofloxacin, Linezolida, Moxifloxacin, Nitrofurantoina, Oxacilina, Penicilina, Rifampicina, Screening de cefoxitina, Synercid, Tetraciclina, Trimet/sulfa, Vancomicina, mientras que, para la placa NC68 los antibióticos fueron amicacina, Amox/a clav, Amp/sulbactam, Ampicilina, Cefazolina, Cefepima, Cefotaxima, Ceftriaxina/ a cavulanico, Ceftazidima, Ceftazimida/acavulanica, Ceftriaxona, Cefuroxima, Ciprofloxacina, Ertapenem, Gentamicina, Imipenem, Levofloxacin, Meropenem, Pip/tazo, Tetraciclina, Tigeciclina, Tobramicina, Trimet-sulfa.

Resultados y Discusión

De las 109 cepas aisladas, el 11% pertenecieron al género de los *Staphylococcus*, de los cuales 9 cepas fueron multirresistentes a 7 o más antibióticos, lo que corresponde a un 50% de todas las cepas. Mientras que para 4 cepas no se logró tener el antibiograma, lo que corresponde a un 25% y el restante 25% de los aislamientos fueron en su mayoría sensibles a todos los antibióticos probados (Tabla 1).

Es importante destacar que en este estudio no se encontró *Staphylococcus aureus*, lo cual no concuerda con algunos estudios reportados en la literatura. Por

ejemplo, Hermans K y cols., (2000) reportó que *S. aureus* es patógeno de aves psitacidas, aunque ellos sugieren que este microorganismo no es la causa más frecuente de la enfermedad del ave. Aunque las CNS son menos patógenas que *S. aureus* (Livermore DM, 2000) fueron más frecuentes en este estudio. Es interesante mencionar que una cepa de *Staphylococcus sciuri* presentó multirresistencia a 16 antibióticos y seis aislamientos a 11 antibióticos. Estos resultados concuerdan con aquellos que reportan que especies como *S. hyicus*, *S. sciuri*, *S. xylosus* o *S. cohnii* son particularmente importantes ya que estas poseen los genes que codifican mecanismos de resistencia a antibióticos y producción de enterotoxinas (Chah KF y cols., 2014; Aarestrup FM y cols., 2000).

Las cepas de *Staphylococcus xylosus* fueron sensibles a amoxiciclina, ciprofloxacina, gentamicina, levofloxacin, linezolida, moxifloxacin y nitrofurantoina, mientras mostraron resistencia a clindamicina. Este resultado concuerda con el publicado por Vela y cols. (2012), quienes realizaron la caracterización de *Staphylococcus xylosus* aislados de bioaerosoles de pollos de corral y un total de 84 cepas de *S. xylosus* fueron aisladas, las cuales fueron sensibles a gentamicina y resistentes a diversos antibióticos como ácido nalidíxico (86.9%), novobiocina (85.7%),

Tabla 1. Antibiograma de las diferentes cepas de estafilococos

Cepa	Nombre	Resistencia a antibióticos	Cantidad de antibióticos
3 inv	<i>Staphylococcus auricularis</i>	Amoxicilina/clavulánico, Ampicilina/sulbactam, ampicilina, ceftriaxona, clindamicina, eritromicina, oxacilina, penicilina, sinercida, Trimetoprim/sulfa, vancomicina	11
9	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Amoxicilina/clavulánico, Ampicilina/sulbactam, ampicilina, ceftriaxona, clindamicina, oxacilina, penicilina, Trimetoprim/sulfa	8
15	<i>Staphylococcus sciuri</i>	Amoxicilina/clavulánico, Ampicilina/sulbactam, ampicilina, ceftriaxina, clindamicina, eritromicina, oxacilina, penicilina, rifampicina, sinercida, vancomicina	11
21	<i>Staphylococcus Cohnii</i>	Amoxicilina/clavulánico, Ampicilina/sulbactam, ampicilina, ceftriaxina, clindamicina, eritromicina, oxacilina, penicilina, rifampicina, sinercida, vancomicina	11
24	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Amoxicilina/clavulánico, Ampicilina/sulbactam, ampicilina, ceftriaxina, clindamicina, eritromicina, oxacilina, penicilina, rifampicina, sinercida, vancomicina	11
28	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Amoxicilina/clavulánico, Ampicilina/sulbactam, ampicilina, ceftriaxina, oxacilina, penicilina, sinercida, vancomicina, gentamicina, tetraciclina	10
29	<i>Staphylococcus xylosus</i>	Cepa sensible	1
32	<i>Staphylococcus intermedius</i>	Cepa sensible	0
42	<i>Staphylococcus sciuri</i>	Amoxicilina/clavulánico, Ampicilina/sulbactam, ampicilina, ceftriaxina, clindamicina, eritromicina, oxacilina, penicilina, sinercida, gentamicina, tetraciclina	11
43	<i>Staphylococcus sciuri</i>	Amoxicilina/clavulánico, Ampicilina/sulbactam, ampicilina, ceftriaxina, clindamicina, eritromicina, oxacilina, penicilina, rifampicina, sinercida, vancomicina, ciprofloxacina, gentamicina, levofloxacin, moxifloxacin, tetraciclina	16
52	<i>Staphylococcus auricularis</i>	Cepa sensible	0
54	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Eritromicina, clindamicina, tetraciclina	3
76	<i>Staphylococcus Schleiferi subsp schleiferi</i>	Amoxicilina/clavulánico, Ampicilina/sulbactam, ampicilina, ceftriaxina, clindamicina, eritromicina, oxacilina, penicilina, rifampicina, sinercida, vancomicina	11
82	<i>Staphylococcus xylosus</i>	Cepa sensible	0
88	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cepa sensible	1
104	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Clindamicina, eritromicina, tetraciclina	3
105	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Eritromicina, clindamicina, tetraciclina	3

Tabla 2. Número de miembros de estafilococos identificados en el estudio.

Número de cepa	Nombre	Frecuencia	%
15, 42, 43	<i>S. sciuri</i>	3	17.6
21	<i>S. colnii</i>	1	5.8
9, 24, 88	<i>S. epidermidis</i>	3	17.6
28	<i>S. haemolyticus</i>	1	5.8
29, 82	<i>S. xylosus</i>	2	11.7
3, 52	<i>S. auricularis</i>	2	11.7
76	<i>S. schleiferi</i>	1	5.8
32	<i>S. intermedius</i>	1	5.8
54, 104, 105	<i>S. saprophyticus</i> 40.68% <i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i> 35.43%	3	17.6

Tabla 3. Mecanismos de acción de los antibióticos empleados en este estudio.

Antibiótico de placa	Subclasificación	Familia	Lugar de acción
Amoxicilina/Ac. Clavulánico	Penicilinas	β - lactámico	Síntesis de pared celular
Ampicilina/sulbactam	Penicilinas	β - lactámico	
Ampicilina	Penicilinas	β - lactámico	
Ceftriaxona	Cefalosporinas	β - lactámico	
Clindamicina	Lincosamidas	Macrólidos	Síntesis de proteínas en subunidad 50S ribosomal
Eritromicina	Eritromicina	Macrólidos	Síntesis de pared celular
Oxacilina	Aminopenicilinas	β - lactámico	
Penicilina	Penicilina	β - lactámico	Inhibe la RNA polimerasa
Rifampicina	Ansamicinas	Lactosas macrocíclicas	
Sinercida	Streptograminas	MLS (macrólidos, lincosamidas, estreptograminas)	Síntesis proteica
Vancomicina	Vancomicinas	Glicopéptidos	Síntesis de peptidoglicano de pared celular
Gentamicina	Gentamicina	Aminoglucósidos	Síntesis de proteínas subunidad 30 S ribosomal
Tetraciclina	Tetraciclina	Tetraciclinas	Síntesis de proteínas
Ciprofloxacina	2ª generación	Quinolonas	Inhibición de DNA girasa
Levofloxacina	3ª generación	Quinolonas	
Moxifloxacina	2ª generación	Quinolonas	
Trimetoprina/sulfametoxazol	Trime/sulfa	Trimetoprima/sulfonamidas	Afecta el metabolismo del ácido fólico dañando replicación de DNA
ceftriaxina	Cefalosporinas 2ª generación	β -lactámicos	inhibición de pared celular

penicilina (70.2%), lincomicina (46.4%), eritromicina (11.9%) y otros

En la tabla 2 se muestra que *S. sciuri*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* fueron las especies más prevalentes con 3 aislamientos (17.6%) respectivamente. Mientras que las especies menos comunes fueron *S. cohnii*, *S. haemolyticus*, *S. schleiferi*, y *S. intermedius* con un solo aislamiento (5.8%).

La pared celular de las bacterias Gram positivas como estafilococos provee un exoesqueleto rígido para estas células que ayuda contra el daño mecánico, la lisis osmótica y evita la entrada de algunos antibióticos. Además, contiene diversas proteínas de superficie que desempeñan funciones importantes para su supervivencia (Navarre WW y Schneewind O, 1999), como la proteína A que une IgG por la región Fc, lo que le permite pasar inadvertido por el sistema inmune al evitar la opsonización y la fagocitosis, así como, proteínas de unión a fibrina y fibrinógeno (Foster T, 1996). Por tanto, la resistencia a β -lactámicos, quinolonas y tetraciclinas que se obtuvo en este estudio es debido al hecho de que estos antibióticos son comúnmente empleados en el tratamiento de diversas enfermedades bacterianas en la medicina veterinaria y muchas veces se desconoce el agente etiológico de la patología.

S. sciuri atrajo nuestra atención ya que fue la especie más resistente a los antibióticos ensayados y ha sido sugerido que el gen *mecA* de las cepas resistentes a meticilina de estafilococos proviene de un homólogo *mecA* identificado en *S. sciuri* (Kloos WE y cols., 1997). Además, la capacidad de *S. sciuri* para transferir genes de resistencia a otras bacterias patógenas para el ser humano es alta (Wu S y cols., 1998). También *S. sciuri* tiene un amplio espectro de posibles factores de virulencia ya que tienen alta capacidad de producción de biopelículas, presenta altas actividades proteolíticas y de DNAasa, produce hemolisinas y estimula la producción de óxido nítrico por macrófagos de rata (Stepanovic S y cols., 2001). Por tanto, *S. sciuri* puede causar varias infecciones en el humano (Hedin y Widerstrom, 1998).

S. epidermidis y *S. saprophyticus* han sido implicados como patógenos oportunistas en infecciones humanas y su alta prevalencia en este tipo de infecciones se debe a su capacidad de adherencia a la superficie de los catéteres y *S. epidermidis* también presenta un factor de virulencia conocido como operón *ica* importante en la formación de biopelículas (Otto M., 2009; Piette A y Verschraegen G, 2009).

Por otro lado, cabe mencionar que las placas P033 y NC68 utilizadas cuentan con los antibióticos que se utilizan actualmente en el tratamiento clínico. En la tabla 3 se incluyen las familias a las que pertenecen y el lugar de acción de cada antibiótico. Se hace ver que la mayoría de los antibióticos a los que son resistentes las cepas antes mencionadas son beta lactámicos los cuales tienen su lugar de acción sobre la síntesis de pared celular o del peptidoglicano de pared celular, otros antibióticos a los que son resistentes son la rafampicina, la clindamicina, la eritromicina, la sinercida, la gentamicina y la tetraciclina, cuyos efectos son dirigidos contra la síntesis de proteínas a diferentes niveles, es decir, sobre la RNA polimerasa, otros sobre la subunidad 50 S, sobre síntesis proteica en general y sobre la subunidad 30 S, respectivamente.

Las razones por las cuales presentan esta multiresistencia son por los mecanismos de variedad genética que incluyen la adquisición de plásmidos extracromosomales, adición de transposones o plásmidos en el cromosoma, o bien por mutaciones. Esto a su vez genera la capacidad de tener enzimas que inactivan a la droga como las β -lactamasas, mecanismos que alteran la estructura del sitio de unión del antibiótico haciéndolo menos afín como el caso de la subunidad A de la girasa (Vignoli R, 2019), mecanismos que evitan la acumulación de concentraciones tóxicas dentro de la célula como los transportadores ABC, o por la presencia de una versión de proteína o estructura resistente al antibiótico como un ribosoma modificado (Foster T, 1996).

Conclusión

Es necesario realizar la vigilancia sobre los cambios de microbiota en la población de canarios del aviario para monitorear las características de virulencia y susceptibilidad antimicrobiana de microorganismos patógenos y oportunistas. Estos resultados subrayan la necesidad de nuevas investigaciones sobre el papel epidemiológico como reservorios de cepas zoonóticas de estas aves para el personal que labora en el aviario La Güera.

Perspectivas

Para corroborar la identidad de las cepas aisladas se pretende utilizar herramientas moleculares y para demostrar que las cepas son sensibles a algunos antibióticos se retaran las cepas a trimetoprim, sulfametoxazol a diferentes concentraciones que las ya ensayadas debido a que es el actual tratamiento

de elección en el aviario. Así mismo se planea usar la linezolidina como tratamiento alternativo, esto con la finalidad de que el personal encargado de las aves pueda contar con información que le permita mejorar la toma de decisiones cuando los especímenes se enferman.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo económico y el acceso a los animales recibido por parte del MAP. Jorge Delgado Sierra del aviario La Güera. Además, agradecemos la capacitación y apoyo técnico de las químicas; QFB. Ana Ruth García y QFB. María de Socorro González Silveyra en la identificación de los microorganismos mediante el equipo microScan 4.0 del laboratorio de microbiología del Hospital ISSSTE Francisco Chávez.

Literatura citada

Aarestrup, F. M., Agersø, Y., Ahrens, P., Jørgensen, J. C. Ø., Madsen, M., & Jensen, L. B. (2000). "Antimicrobial susceptibility and presence of resistance genes in staphylococci from poultry." Veterinary Microbiology74(4): 353-364.

Briscoe, J. A., Morris, D. O., Rosenthal, K. L., Shofer, F. S., & Rankin, S. C. (2009). "Evaluation of mucosal and sebaceous sites for staphylococci in two populations of captive psittacines." Journal of the American Veterinary Medical Association234(7): 901-905.

Cain, C. L. (2013). "Antimicrobial Resistance in Staphylococci in Small Animals." Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice43(1): 19-40.

Chah, K. F., Gómez-Sanz, E., Nwanta, J. A., Asadu, B., Agbo, I. C., Lozano, C. & Torres, C. (2014). "Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from healthy dogs in Nsukka, Nigeria." Brazilian Journal of Microbiology45(1): 215-220.

Couto, I., de Lencastre, H., Severina, E., Kloos, W., Webster, J. A., Hubner, R. J., Tomasz, A. (1996). "Ubiquitous Presence of a mecA Homologue in Natural Isolates of Staphylococcus sciuri." Microbial Drug Resistance2(4): 377-391.

Davis, M. F., Cain, C. L., Brazil, A. M., Rankin, S. C. (2013). "Two coagulase-negative staphylococci emerging as potential zoonotic pathogens: wolves in sheep's clothing?" Frontiers in microbiology4(123): 1-4.

Foster Timothy. 1996. Medical microbiology. Baron S, editor. 4ª edición. University of Texas Medical Branch at Galveston. Capítulo 12. Estafilococos

Fudge, A. M. (2001). "Diagnosis and treatment of avian bacterial diseases " Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine10(1): 3-11.

Guirguitzova, B., Chankova, D., Zozikov B. (2002). "Staphylococci as uropathogens-frequency of isolation in hospitalized patients and sensitivity to antimicrobial agents." Ann urol36(5): 341-347.

Hauschild, T., Kehrenberg, C., Schwarz, S. (2003). "Tetracycline Resistance in Staphylococci from Free-living Rodents and Insectivores." J. Vet. Med. B50: 443-446.

Hedin, G. W. (1998). "Endocarditis due to Staphylococcus sciuri." Eur J Clin Microbiol Infect Dis17: 673-675.

Kawano, J., Shimizu, A., Saitoh, Y., Yagi, M., Saito, T., Okamoto, R. (1996). "Isolation of Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci from Chickens." Journal of clinical microbiology34(9): 2072-2077.

Kloos, W. E., Ballard, D.N., Webster, J. A., Hubner, R. J., Tomasz, A., Couto, I. & Ljungh, A. (1997). "Ribotype Delineation and Description of Staphylococcus sciuri Subspecies and Their Potential as Reservoirs of Methicillin Resistance and Staphylolytic Enzyme Genes. ." International Journal of Systematic Bacteriology47(2): 313-323.

Kloos, W. M., M. (1975). "Distribution and Persistence of Staphylococcus and Micrococcus Species and Other Aerobic Bacteria on Human Skin." Applied microbiology30(3): 381- 395.

Koski, M. A. (2002). "Dermatologic Diseases in Psittacine Birds: An Investigational Approach " Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine11(3): 105-124.

Livermore, D. M. (2000). "Antibiotic resistance in staphylococci." Antibiotic resistance in staphylococci.16: 3-10.

Navarre, W. W. S., O. (1999). "Surface Proteins of Gram-Positive Bacteria and Mechanisms of Their Targeting to the Cell Wall Envelope." Microbiology and molecular biology reviews63(1): 174-229.

- Otto, M. (2009). "Staphylococcus epidermidis – the "accidental" pathogen." Nature Reviews Microbiology7(8): 555-567.
- Piette, A., & Verschraegen, G. (2009). "Role of coagulase-negative staphylococci in human disease." Veterinary Microbiology134(1-2): 45-54.
- Silvanose, C. D., Bailey, T. A., Naldo, J. L., & Howlet, J. C. (2001). "Bacterial Flora of the conjunctiva and nasal cavity in normal and diseased captive bustards." Avian Diseases45(2): 447.
- Stepanovic, S., Dimitrijevic, V., Vukovic, D., Dakic, I., Savic, B., Svabic-Vlahovic, M. (2001). "Staphylococcus sciuri as a part of skin, nasal and oral flora in healthy dogs." Vet. Microbiol.82: 177-185.
- Vignoli R., Seija V. Principales mecanismos de resistencia antibiótica. Cap 35 pp 649-662.
- Webster, J. A., Bannerman, T. L., Hubner, R. J., Ballard, D.N., Cole, E. M., Bruce, J. L. & Kloos, W. E. (1994). "Identification of the Staphylococcus sciuri Species Group with EcoRI Fragments Containing rRNA Sequences and Description of Staphylococcus vitulus sp. nov." international journal of systematic bacteriology 44(3): 454-460.
- Werckenthin, C., Cardoso, M., Martel. J. L., Schwarz, S. (2001). "Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine Staphylococcus aureus, porcine Staphylococcus hyicus, and canine Staphylococcus intermedius." Vet. Res32(3-4): 341-362.
- Wu, S., de Lencastre, H. & Tomasz, A. (1998). "Genetic organization of the mecA region in methicillin-susceptible and methicillin-resistant strains of Staphylococcus sciuri." Journal of bacteriology 180(2): 236-242.

Actividad antifúngica *In vitro* de los extractos vegetales de sangre de grado (*Jatropha dioica*) y olivo (*Olea europaea*) ante especies de *Candida* spp hospitalarias

¹Dennise Guadalupe Jaramillo-Nevárez, ¹Yareli Jaramillo-Nevárez, ¹Miguel A. Téllez-López, ¹Ruth E. Alanis-Bañuelos, ¹Fernando Castro-Barraza, ¹Concepción García-Luján

¹Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Artículo 123 s/n Fracc. Filadelfia, Gómez Palacio Dgo. C.P. 35010. Tel. (871) 715 8810, (871) 715 2964

*Email: conygarcialujan@hotmail.com

RESUMEN

Las especies de *Candida* son la tercera causa más común de infección nosocomial e infecciones del torrente sanguíneo en pacientes, se reporta que *C. albicans* sigue siendo la causa predominante de la candidemia. El aumento en la prevalencia de las micosis, la aparición de cepas fúngicas resistentes a los agentes antimicóticos empleados en la actualidad y los efectos secundarios que estos últimos provocan en los pacientes son, sin duda motivos de estudio de las plantas que buscan descubrir nuevos agentes antimicrobianos que sean eficaces, con menos efectos tóxicos en el organismo humano. Este estudio evaluó el efecto antifúngico *in vitro* de los extractos etanólicos, hexánicos y clorofórmicos del material vegetal de sangre de grado (*Jatropha dioica*) y olivo (*Olea europaea*) ante especies de *Candida* spp. hospitalarias. Los extractos se elaboraron por maceración con solventes orgánicos. Se utilizó el método de difusión en placa con sensidiscos y se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos ante las cepas fúngicas. Los extractos hexánico, clorofórmico y etanólico de (*Olea europaea*) mostraron actividad antifúngica significativa ante *C. tropicalis*. Se demostró que *Jatropha dioica* tuvo una mayor actividad antifúngica ante las diferentes especies de *Candida*.

Palabras clave: Actividad antifúngica, especies de *Candida*, sangre de grado (*Jatropha dioica*), olivo (*Olea europaea*) productos naturales bioactivos.

ABSTRACT

Candida species are the third most common cause of nosocomial infection, infections of the bloodstream in patients, although *C. albicans* remains the predominant cause of candidemia. The increase in the prevalence of mycoses, the appearance of fungal strains resistant to the antifungal agents currently used and the side effects that the latter cause in patients are, undoubtedly, the study of the plants that are looking for new antimicrobial agents That are effective, with less toxic effects in the human organism. This study evaluated the *in vitro* antifungal effect of ethanolic, hexanic and chloroformic extracts from grade blood (*Jatropha dioica*) and olive (*Olea europaea*) plant material against *Candida* spp. Hospital. The extracts were prepared by maceration with organic solvents. The plate diffusion method was used with sensidiscs and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined. The hexanic, chloroform and ethanolic extracts of (*Olea europaea*) showed significant antifungal activity against *C. tropicalis*. It was shown that *Jatropha dioica* had more antifungal activity against different *Candida* species.

Key words: Antifungal activity, species of *Candida*, sangre de grado (*Jatropha dioica*), olive (*Olea europaea*) bioactive natural products.

INTRODUCCIÓN

La candidiasis es una infección causada por varias especies que conforman el género *Candida*. En la población general se ha presentado recientemente un incremento de la enfermedad, posiblemente, por la mayor exposición a factores de riesgo, los cuales incluyen el tratamiento con esteroides, citostáticos o inmunosupresores, el incremento del VIH-sida, el trasplante de órganos y las enfermedades como la diabetes, la leucemia y el linfoma; a su vez, los recién nacidos y los ancianos son más propensos al desarrollo de esta entidad (Palacios *et al.*, 2011).

Los pacientes con riesgo de desarrollar candidiasis diseminada a menudo tienen puertos implantables, o catéteres intravasculares urinarios y estos constituyen sustratos potenciales para la formación de biopelículas de diversos microorganismos, entre ellos, *Candida*. Además, hay pruebas indirectas de que *Candida* forma biopelículas bajo condiciones clínicas que muestran resistencia intrínseca a los antifúngicos (Vediyappan *et al.*, 2010).

Candida albicans sigue siendo el patógeno más frecuente aislado en candidiasis invasiva, sin embargo, las crecientes tasas de candidemias causado por especies no-*albicans* de *Candida*, incluyendo *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*, se han reportado en todo el mundo (Colombo *et al.*, 2010).

Las especies del género *Candida* son levaduras comensales que colonizan el tracto gastrointestinal y genital, siendo *C. albicans* la más estudiada. Estos microorganismos son oportunistas, ya que en determinadas circunstancias son capaces de proliferar e invadir, transformándose en patógenos (Alburquenque *et al.*, 2013). Las plantas son abundantes fuentes de productos que han sido utilizados durante siglos para el tratamiento de enfermedades infecciosas. El aumento en la prevalencia de las micosis, la aparición de cepas fúngicas resistentes a los agentes antimicóticos empleados en la actualidad y los efectos secundarios que estos últimos provocan en los pacientes son, sin duda motivos de estudio de especies vegetales

con la finalidad de descubrir nuevos agentes antifúngicos que sean eficaces, con menos efectos tóxicos en el organismo humano. Por lo tanto, la justificación para la realización de este estudio fue para determinar la susceptibilidad de cepas de *Candida* spp. productoras de enfermedades infecciosas ante los extractos de sangre de grado (*Jatropha dioica*) y olivo (*Olea europaea*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los extractos (hexánico, clorofórmico y etanólico)

Se utilizaron 20 g de material vegetal seco, el cual se colocó en un mortero con mano hasta obtener un polvo fino. Enseguida éste se vació en frascos de vidrio de boca ancha con capacidad de 250 ml. Posteriormente se adicionaron 200 ml de cada solvente, se cubrieron los frascos con aluminio para protegerlos de la luz y se mantuvieron en agitación constante durante 72 horas. Una vez transcurrido el tiempo, se filtró a través de una gasa para colectar material vegetal de gran tamaño y enseguida a través de filtro Whatman No. 4. Este procedimiento se realizó tres veces, adicionando otros 200 ml de cada solvente, dejándolo en reposo por 72 h, filtrando y colectando el material mismo que fue guardado en refrigeración a -4°C y al término, el material se sometió al rotavapor (Buchi), para eliminar el solvente y obtener el extracto concentrado y puro.

Aislamiento, caracterización e identificación de las especies de *Candida*

Las muestras clínicas fueron sembradas en agar Sabouraud, realizando la siembra con ayuda de un asa bacteriológica sobre la superficie del agar contenido en la caja Petri por la técnica de agotamiento, posteriormente se incubaron durante 24 h a 37°C. Al término de la incubación se observó el tamaño, la forma, la textura y el color de las colonias, de las colonias sospechosas, se tomó una muestra para su resiembra y aislamiento. Después se llevó a cabo la identificación utilizando VITEK compact 2 que es un sistema de identificación microbiana completamente automatizado.

Estandarización del tamaño del inóculo

Se tomaron de 2 a 5 colonias de cada especie fúngica, se suspendieron en tubos con 3 ml de solución salina estéril, y la turbidez se ajustó a 0.5 del estándar de Mac Farland que equivale a 1.5×10^8 UFC/mL. Posteriormente, se colocaron 100 μ L de esta muestra estandarizada sobre el centro de la caja Petri con el agar PDA y se homogenizaron con un hisopo estéril.

Preparación de las diluciones para la actividad antifúngica

Las soluciones stock para determinar la actividad antifúngica se prepararon disolviendo aproximadamente 0.002 g de las muestras a evaluar con dimetilsulfóxido (DMSO), con esto se obtiene una concentración de 20,000 μ g/mL. Enseguida se prepararon diluciones seriadas a concentraciones de 500, 250, 125, 62.5 y 31.2 μ g/ml.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de difusión en placa con sensidiscos

Se realizó el ensayo para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria por el método de difusión en agar con sensidiscos, de inicio se colocó el inóculo fúngico previamente estandarizado (0.5 en la escala de MacFarland, equivalente a 1.5×10^8 UFC/mL), se distribuyó

de manera uniforme con un asa sobre la superficie de la placa. Una vez inoculadas las placas se colocaron en ellas los discos estériles de papel filtro Wathman No.4 con diámetro de 6mm de manera equidistante e impregnados con 12.5 μ L de cada concentración de los tratamientos a evaluar. Se colocó un control positivo con la cepa y un control negativo sin levadura. Posteriormente el material se incubó a una temperatura de 35°C durante 24 h. La zona de inhibición fue interpretada como el área de superficie radiada del disco que estuvo libre de crecimiento fúngico. Se tomaron dos medidas perpendiculares a cada uno de los bordes del disco de papel al margen externo de la zona de inhibición y se promediaron.

ORGANIZACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

Los datos resultantes se organizaron en tablas y gráficas y se obtuvieron promedios de los resultados de las pruebas que se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó la actividad antifúngica de los extractos etanólico, clorofórmico y hexánico de sangre de grado (*Jatropha dioica*) y olivo (*Olea europaea*) ante cepas de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei* utilizando la técnica de difusión en placa con sensidiscos. Como ya se sabe las especies de *Candida* son importantes

Tabla 1. Halos de inhibición en mm, producidos en función de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de los extractos de olivo (*Olea europaea*) ante las especies de *Candida* spp.

TIPO DE EXTRACTO	Olivo (<i>Olea europaea</i>)														
	Hexánico					Clorofórmico					Etanólico				
Concentración del extracto	500	250	125	62.5	31.2	500	250	125	62.5	31.2	500	250	125	62.5	31.2
<i>C. albicans</i>	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
<i>C. krusei</i>	9	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
<i>C. glabrata</i>	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
<i>C. tropicalis</i>	9	8	11	12	13	5	7	12	13	13	13	15	13	12	15

Control: Poligynax: Neomicina/Polimixina-B/Nistatina.

NI = No hubo inhibición.

Tabla 2. Halos de inhibición en mm, producidos en función de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de los extractos de sangre de grado (*Jatropha dioica*) ante las especies de *Candida* spp.

Sangre de grado (<i>Jatropha dioica</i>)															
TIPO DE EXTRACTO	Hexánico					Clorofórmico					Etanólico				
Concentración del extracto	500	250	125	62.5	31.2	500	250	125	62.5	31.2	500	250	125	62.5	31.2
<i>C. albicans</i>	NI	NI	NI	NI	8	NI	11	12	12		10	NI	8	11	11
<i>C. krusei</i>	9	15	18	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	4	NI	NI	NI	NI
<i>C. glabrata</i>	NI	NI	NI	9	8	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	13	NI	NI
<i>C. tropicalis</i>	9	9	10	7	8	8	10	12	8	8	8	10	8	8	10

Control: Poligynax: Neomicina/Polimixina-B/Nistatina.

NI = No hubo inhibición.

patógenos oportunistas que causan varias enfermedades principalmente en pacientes inmunocomprometidos, así como lo reportó Jiang (2013).

Con respecto a su actividad antifúngica, el resultado de la investigación elaborado por De la Fuente (2004), confirma que el hidroxitirosol, que es el principal componente del olivo (*O. europaea*), posee efecto antimicrobiano frente a bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas, con CMI que van de 0,97a 31,25 µg/ml para cepas aisladas de la clínica, siendo en ocasiones efectivo a menor concentración que la eritromicina y la ampicilina, los resultados del presente trabajo tienen concordancia con este autor, ya que a menor concentración hubo mayor halo de inhibición al menos en *C. tropicalis* (Tabla 1). Otros componentes importantes en las hojas del olivo (*O. europaea*) son: oleuropeína, polifenol clasificado como secoirioide y también flavonoides como la rutina y la hesperidina (Abaza, 2015).

La actividad antifúngica obtenida en este estudio fue variada, observándose diferencias importantes entre las especies vegetales utilizadas, así como en los extractos con los diferentes solventes de extracción empleados. En todos los casos se evaluó el efecto inhibitorio como la presencia de halos de inhibición. Aunque en algunos casos se observaron diferencias en el diámetro de los halos obtenidos,

solo se determinó la potencia antifúngica de los extractos con base en ello, tal como lo reporta Lapenna, (2003). En la **Tabla 2** se muestran los resultados con los extractos de *Jatropha dioica*.

CONCLUSIONES

Los extractos etanólico, clorofórmico y hexánico del olivo y de sangre de grado presentaron un mejor efecto antifúngico en *C. tropicalis* en comparación con las demás especies de *Candida*.

Se observó un mayor porcentaje de inhibición de crecimiento en el extracto hexánico de sangre de grado (*Jatropha dioica*) en la concentración 125 µg/ml ante la especie de *C. krusei*, esto debido a los componentes de tipo fenólico que este solvente puede extraer como son los diterpenos como la citlalitrióna, jatrofona y riolosatrióna y un esteral, el R-sitosterol. De sus raíces se obtiene un aceite esencial, resinas, saponinas, alcaloides y ácido oxálico. De su corteza se obtiene un latex rico en taninos.

En este estudio se pudo determinar la susceptibilidad de especies de *Candida* spp, como parte del conocimiento que se requiere para el control de las especies de *Candida* spp por métodos alternativos.

LITERATURA CITADA

- Palacios C, Gomez L, Cardona N. Candidiasis mucocutánea: espectro clínico. Rev. Asoc. Colomb. Dermatol. 2011; 19: 329.
- Vediyappan G, Rossignol T, d'Enfert C. "Interaction of *Candida albicans* biofilms with antifungals: transcriptional response and binding of antifungals to beta-glucans." Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2010;54: 2096-2097.
- Colombo A, Ngai A, Bourgue M, et al. "Caspofungin use in patients with invasive candidiasis caused by common non-*albicans* *Candida* species: Review of the caspofungin database." Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2010; 54(5): 1865.
- Alburquenque C, Beltrán S, Olivares R. "Distribución de especies y perfil de susceptibilidad de aislados de *Candida* spp: la importancia de vigilar también cepas de la comunidad" Rev. Chilena Infectol. 2013; 30(3): 244-251.
- De la Fuente P, Chamorro P, Moreno M, Poza MA. "Propiedades antioxidantes del hidroxitirosol procedente de la hoja de olivo (*Olea europaea* L.)." Revista de Fitoterapia 2004; 4(2): 139-147.
- Abaza, L., Taamalli, A., Nsir, H., & Zarrouk, M. Olive Tree (*Olea europaea* L.) Leaves: Importance and Advances in the Analysis of Phenolic Compounds. Antioxidants. 2015 4(4), 682-698. doi:10.3390/antiox4040682.
- Jiang C, Dong D, Yu B. "Mechanisms of azole resistance in 52 clinical isolates of *Candida tropicalis* in China" Journal Antimicrobial Chemotherapy 2013; 68: 778-785.
- Palacios C, Gómez L, Cardona N. "Candidiasis mucocutánea: espectro clínico." Rev. Asoc. Colomb. Dermatol. 2011; 19: 239.
- Lapenna E, Medina G, Diaz L. et al. Actividad bactericida y fungicida de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional venezolana. Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel 2003; 34 (1).

**Cuerpo académico UJE- CA- 134 Química y Tecnología de Productos Alimenticios
LGAC: Tecnología de Alimentos y sus biocomponentes**

Nombre proyecto	Investigador responsable	
Contenido de licopeno en tomate orgánico y con fertilización química.	Guadalupe Candelas Cadillo	
Propiedades funcionales y de textura de sábila (<i>Aloe vera barbadensis</i> Miller) fresca y procesada.		
Extracción de biocomponentes de diferentes matrices alimentarias aplicando ultrasonido de potencia	José Rafael Minjares Fuentes	
Aplicación de ultrasonidos de potencia al gel de Aloe vera		
Efecto de la temperatura y la velocidad de alimentación del secado por aspersión en las propiedades funcionales, la concentración de aloemodina y aloína, la actividad antioxidante y el perfil de carbohidratos del jugo de gel de <i>Aloe barbadensis</i> Miller	Juan José Martínez García	
Construcción de un extractor sólido - líquido didáctico	Víctor Manuel Rodríguez González	
Textura, nivel de agrado y vida de anaquel de un mazapán de nuez (<i>Carya illinoensis</i>) adicionado con diferentes concentraciones de inulina y leche en polvo	Juan Pablo Alemán Morán	

Cuerpo académico UJE-CA-125 Bacteriología Médica Diagnóstica y Salud Pública

LGAC: Factores de virulencia y drogosensibilidad de las enfermedades infecciosas y Salud Pública

Nombre proyecto	Investigador responsable	
Perfil microbiológico de úlceras de pie diabético y actividad antimicrobiana	<p data-bbox="803 680 1089 709">Aurora Martínez Romero</p> 	
Identificación de fuentes de contaminación, una estrategia de saneamiento básico en la prevención de brucelosis humana		
Evaluación del efecto inhibitor y potenciador del plasma rico en plaquetas ante fármacos en microorganismos nosocomiales y su correlación con resistencia a fármacos		
Aplicación del árbol de neem en agricultura, industria, medicina y ambiente: una revisión.		
Diagnóstico de brucelosis caprina por serología y PCR múltiple		
Aislamiento de Mycobacterium abscessus en un paciente con afección cutánea		
Asociación entre el fenotipo del sistema sanguíneo ABO y leucemias		
Análisis de los factores de crecimiento y su efecto inhibitor en microorganismos de importancia clínica	<p data-bbox="803 1346 1089 1375">José de Jesús Alba Romero</p>  	
Aislamiento e identificación de Aeromonas productoras de biopelícula en peces del río Nazas		
Aislamiento e identificación de microorganismos nosocomiales más frecuentes y análisis de sus factores de virulencia		
Análisis de expresión de los genes que codifican para bombas de expulsión y su correlación con resistencia a fármacos de primera y segunda línea por el método de azul de alamar en cepas de micobacterias		
Análisis de los genes lasI/lasR y rhII/rhIR como reguladores de transcripción de los factores de virulencia dependientes del Quorum sensing y su correlación a fármacos en cepas de Pseudomona aeruginosa aislada de pacientes hospitalizados		
Evaluación de los métodos para el diagnóstico de salmonelosis por ELISA y aglutinación en pacientes crónicamente expuestos		
Determinación de Plomo (Pb) y Arsénico (As) en cápsulas de gelatina dura y blanda para uso farmacéutico		

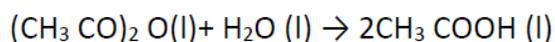
Problema de balances de energía en reactores químicos de flujo ideal

¹ Sierra Campos Erick y ¹Valdez Solana Mónica Andrea

¹Facultad de Ciencias Químicas. Unidad Gómez Palacio. Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED), Artículo 123 s/n, Fraccionamiento Filadelfia, Gómez Palacio, Dgo. CP 35010. Tel (871) 71588 10 y 7 15 29 64.

Email: ericksier@gmail.com; valdezandyval@gmail.com

Un reactor discontinuo de tanque agitado (RTA) adiabático se carga con una solución acuosa que contiene 500 kg de anhídrido acético, a 15.5 °C (288.5 K), cuya concentración es de 0.49 kmol de anhídrido acético/m³. La reacción que se ha de desarrollar en dicho reactor se puede representar por el esquema:



y su cinética es de primer orden respecto al anhídrido acético. Por cada kmol de anhídrido acético que se hidrolice se desprenden 209370 kJ (puede admitirse que ΔH° prácticamente no varía con la temperatura en el intervalo de operación). Calcular el tiempo necesario para alcanzar un grado de conversión del 80 %.

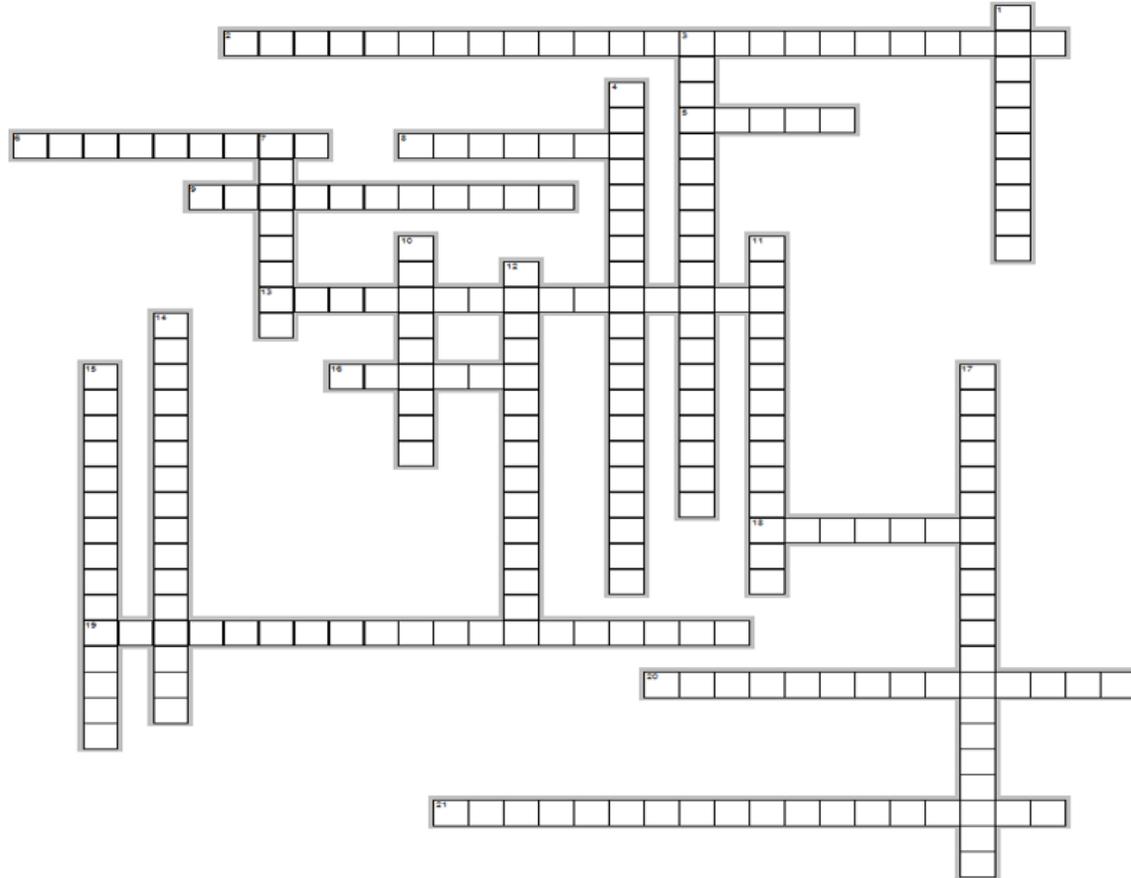
La densidad de la disolución inicial es de 1050 kg/m³ y su calor específico es 3767 J/kg K. Ambas propiedades físicas puede admitirse que permanecen constantes durante toda la reacción. La variación de la constante de velocidad con la temperatura viene dada en la tabla siguiente:

T (K)	277.6	283.1	288.7	294.3	299.8	305.4
k (min ⁻¹)	0.035	0.057	0.084	0.123	0.174	0.245

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.

Crucigrama de Matemáticas

Mónica Valdez Solana y Erick Sierra Campos



© 2014 por www.crucigramas.com

HORIZONTAL

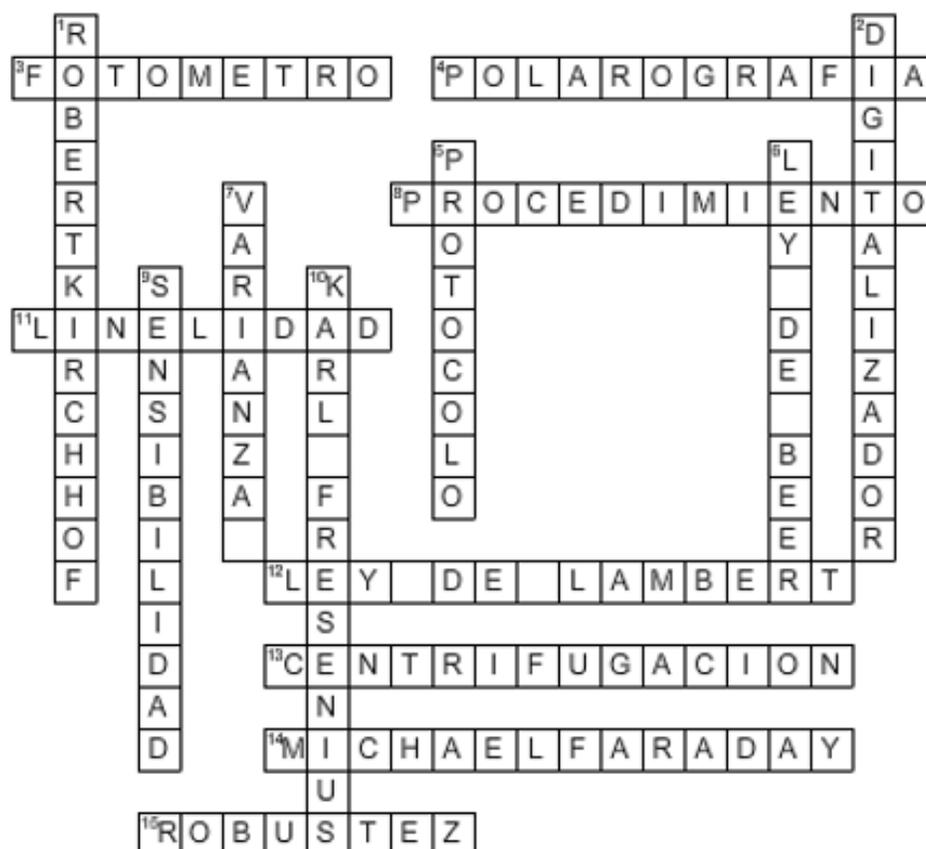
2. Cantidad, estructura, espacio y cambio que corresponden a aritmética, álgebra, geometría y cálculo
5. Instrumento que sirve para efectuar operaciones aritméticas sencillas
6. Conjetura de la que se parte para alcanzar una respuesta mediante deducciones válidas
8. Operaciones necesarias para prever el resultado de una acción previamente concebida, o conocer las consecuencias que se pueden derivar de unos datos previamente conocidos
9. Técnicas para recolectar, organizar, presentar, analizar un conjunto de datos numéricos y a partir de ellos y de un marco teórico, hacer las inferencias de lugar.
13. Cuando las leyes de la matemática se refieren a la realidad, no son exactas; cuando son exactas, no se refieren a la realidad
16. Proposición asumida dentro de un cuerpo teórico sobre la cual descansan otros razonamientos y proposiciones deducidas de esas premisas
18. Proposición que afirma una verdad demostrable
19. Propuesta en el siglo XVIII por Euler
20. Ir más allá de uno mismo y dominar el mundo
21. Campo interdisciplinario de la ingeniería y las matemáticas, que tiene que ver con el comportamiento

de sistemas dinámicos

VERTICAL

1. Del griego "Cosas que se aprenden"
3. Rama de la física comprendida dentro de la mecánica de medios continuos que estudia el movimiento de los fluidos, así como las fuerzas que lo provocan
4. Lista de 23 problemas matemáticos compilados que en 1900 estaban por ser resueltos
7. Generalización de la suma de infinitos sumandos, infinitamente pequeños.
10. Premisa que se toma como modelo a seguir
11. La matemática es la ciencia del orden y la medida, de bellas cadenas de razonamientos, todos sencillos y fáciles
12. La matemática es la ciencia que extrae conclusiones necesarias
14. Claridad, lógica y demostraciones de las definiciones matemáticas
15. Primera mujer en ganar el premio Abel (el Nobel de las matemáticas)
17. En todo triángulo rectángulo, el cuadrado de la longitud de la hipotenusa es igual a la suma de los cuadrados de las respectivas longitudes de los catetos

Analisis Instrumental



Horizontal

Vertical

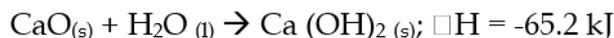
- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> 3. Utiliza una fotocelula como transductor de entrada y filtro de vidrio como fuente de energia 4. Metodo instrumental que mide corriente electrica 8. Instrucciones generales escritas para aplicar un metodo 11. Capacidad del metodo de producir resultados directamente proporcionales a la concentracion del 12. Cuando pasa un haz de luz monocromatica a traves de un medio transparente la intensidad de la luz transmitida 13. Permite aislar particulas y determinar propiedades fisicas como la velocidad de sedimentacion o el peso 14. Establecio las leyes de la electroquimica 15. Capacidad del metodo para no ser afectado por pequeños cambios deliberados en sus parametros | <ul style="list-style-type: none"> 1. Junto con Robert Bunsen establecieron las bases de la espectroscopia 2. Procesador de señales de un instrumento 5. Descripción mas especifica de un metodo 6. Cuando pasa un haz de luz monocromatica a traves de un medio transparente la intensidad de la luz transmitida 7. Se utiliza como parametro de calidad de la precision 9. Capacidad de un metodo o instrumento de diferenciar pequeñas cantidades en las concentraciones de un 10. Editor de la primera revista dedicada a la Quimica Analitica |
|---|---|

Respuesta al problema fisicoquímico

Ivan Artemio Corral Guerrero, Erick Sierra Campos¹ y Mónica Andrea Valdez Solana¹

Facultad de Ciencias Químicas GP, Universidad Juárez del Estado de Durango. Email: ericksier@gmail.com; valdezandyval@gmail.com

El óxido de calcio (cal viva) reacciona con agua para producir hidróxido de calcio (cal apagada)



El calor liberado por esta reacción es suficiente para encender papel. ¿Cuánto calor se libera cuando reaccionan 24.5 g de óxido de calcio?

¡FELICITAMOS! A IVAN ARTEMIO CORRAL GUERRERO DEL CUARTO SEMESTRE sección B POR LA RESOLUCIÓN DEL PROBLEMA.

Compuesto	ΔH_f en KJ/mol
CaO	-635
H ₂ O	-285.8
Ca (OH) ₂	-986.09

Para comprobar la entalpía dada, se opta por el uso de las tablas de entalpías de formación de compuestos. A la entalpía del producto se le resta la suma de entalpías de los reactivos.

$$\Delta H_r^\circ = \sum n_P \cdot \Delta H_{f,P}^\circ - \sum n_R \cdot \Delta H_{f,R}^\circ$$

n_P = coeficiente estequiométrico de los productos en la reacción ajustada

n_R = coeficiente estequiométrico de los reactivos en la reacción ajustada

$\Delta H_{f,P}^\circ$ = entalpías de formación de los productos

$\Delta H_{f,R}^\circ$ = entalpías de formación de los reactivos

$$\Delta H_r = -986 - (-635.1 - 285.8)$$

$$\Delta H_r = -65.19 \approx -65.2 \text{ KJ}$$

Al comprobar la entalpía obtenida se procede a realizar el cálculo de calor de la reacción a partir de la estequiometría:

El cálculo involucra convertir gramos en moles y después en kilojoules de calor. Para ello se calcula del peso molecular:

PM CaO = 56.08 g/mol; con este dato se toma en cuenta la estequiometría de la reacción:

$$\frac{-65.2 \text{ KJ}}{1 \text{ mol}} * \frac{1 \text{ mol CaO}}{56.08 \text{ g}} * 24.5 \text{ g CaO} = Q \text{ en KJ}$$

$$Q = -28.4843 \text{ KJ}$$

Se desprenden 28.48 KJ de calor al mezclar 24.5g de óxido de calcio con agua y el signo indica que la reacción que se libera energía en forma de calor.

La respuesta concuerda con la forma de resolución del libro Ebbing D.D., Gamond S.D. 2009. "Química general" 9ª edición. Cengage learning. pp. 236 ejemplo 6.4



UJED

Universidad Juárez
del Estado de Durango



13°
**SIMPOSIUM INTERNACIONAL
DE CIENCIAS QUÍMICAS 2019**

**Del 21 al 25
de Octubre**

**LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
GÓMEZ PALACIO**

Te convoca a participar en el

SICQ 2019

**Participa en el Concurso de Carteles
revisa la convocatoria en:
www.fcqgp.ujed.mx/remdis**



Costos

**Profesionistas
y estudiantes externos**

\$ 1,000

**Docentes, Estudiantes y
Ex-Alumnos FCQGP**

\$ 600

**PONENCIAS,
CURSOS,
ACTIVIDADES
CULTURALES
Y DEPORTIVAS**

www.fcqgp.ujed.mx
www.facebook.com/fcqqpdgo/

Av. Artículo 123 s/n, Col. Filadelfia
Gómez Palacio, Durango, México

+52 871 715 8810,
871 715 2964



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, egresadas de las carreras de Químico Farmacéutico Biólogo, Ingeniero Químico en Alimentos, Medicina, Biología, Ingeniería Química, Ingeniería Bioquímica, Agronomía, Ecología, Biotecnología 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 escritas (En español e inglés) y habilidades en el uso de herramientas informáticas, que tengan iniciativa así como, interés en la investigación, creatividad, disciplina y con visión holística, para participar en el proceso de admisión y ser candidato a la:

Maestría en Ciencias Químicas

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

Venta de fichas: Del 18 de febrero al 10 de abril

1ª Etapa:

- Fecha límite para entrega de solicitudes y papelería: 12 de abril

2ª Etapa:

- Curso propedéutico el 29 de abril al 19 de junio
- Evaluación Psicométrica:
 - ✓ Entrevista: 13 – 17 de mayo
 - ✓ Examen psicométrico: 3 de junio
- Examen de conocimientos: 15 de abril
- EXANI III el 08 de junio

3ª Etapa:

- Presentación de proyecto, trabajo de tesis o artículo
- Entrevista con comité de selección: 20 y 21 de junio
- Publicación de resultados el 3 de julio
- Inscripciones nuevo ingreso: 5 de agosto
- Plática de inducción: 5 de agosto 2019
- **Inicio de clases el 12 de agosto 2019**

*Padrón Nacional
de Posgrados
de Calidad*



Requisitos para ficha.

- Copia de acta de nacimiento con formato nuevo
- Copia del certificado de licenciatura o constancia de estudios con calificaciones y promedio mínimo de ocho
- Copia notariada de título o acta de examen profesional
- CV con documentos probatorios
- 2 fotografías tamaño credencial
- CURP
- RFC
- Credencial de elector IFE o INE
- 2 cartas de recomendación de investigadores consolidados
- Recibo de pago de ficha

Mayores informes:

Dra. Concepción García Luján

posgradofcggp@ujed.mx

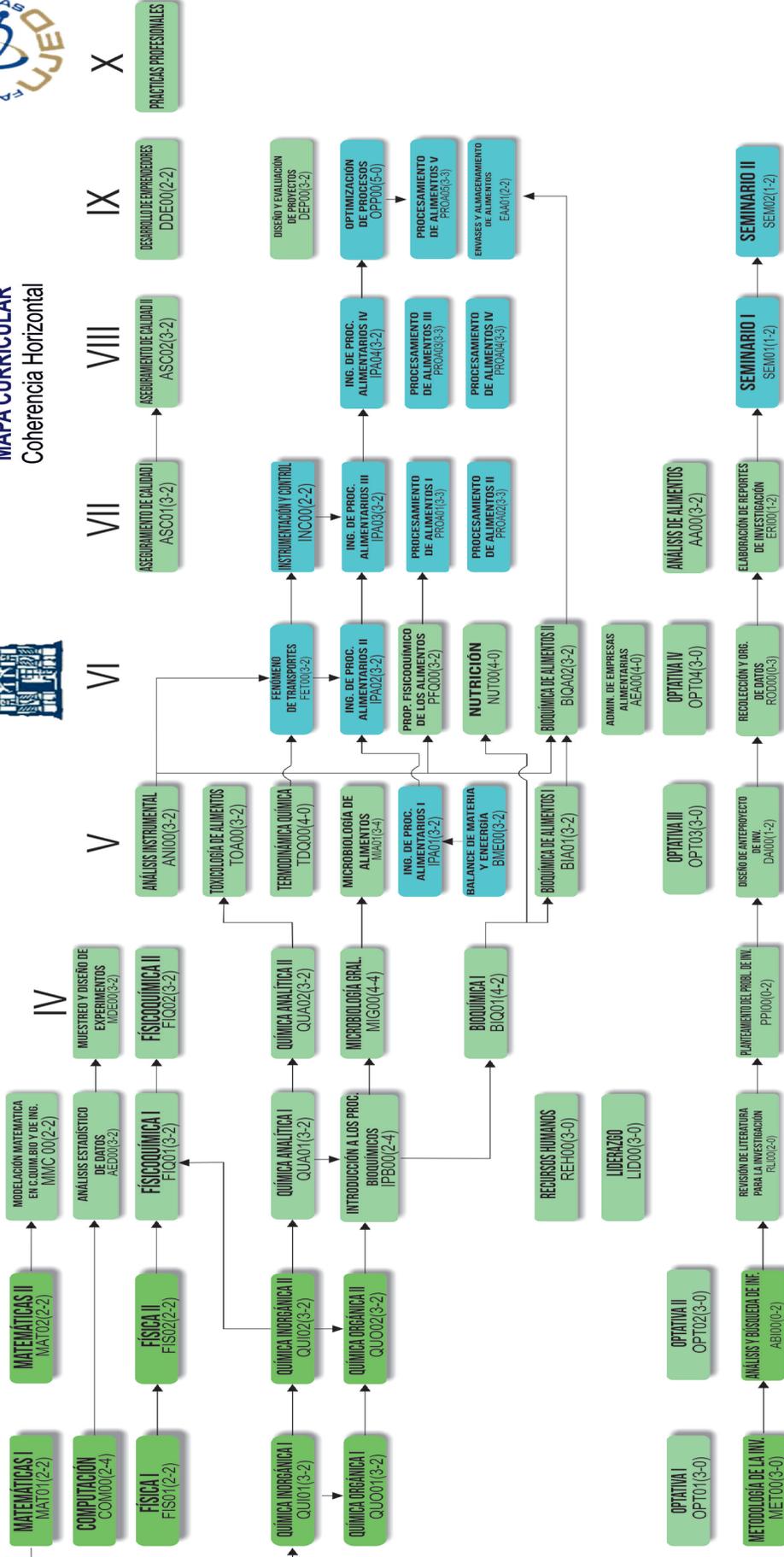
Tel: (871) 7158810 ext. 118 y 131

Pág. Web: www.fcggp.ujed.mx



INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS

MAPA CURRICULAR
Coherencia Horizontal



FORMACIÓN INTEGRAL

ARTE CULTURAL Y DEPORTE			FORMACIÓN INTELLECTUAL			ACTIVIDADES DE VINCULACIÓN			SERVICIO SOCIAL EXPERIENCIA RECEPTORAL			PRACTICAS PROFESIONALES											
T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C	T	P	C									
20	14	34	24	12	36	23	16	39	20	13	33	18	16	34	13	12	25	16	11	27	0	600	12
												8 CRÉDITOS			10 CRÉDITOS 4 CRÉDITOS			12 CRÉDITOS					



REMDIS (fcqgp.ujed.mx)

ISSN: 2594-1445

Publicación Semestral de Investigación Científica 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

Teléfono (871) 715 8810 FAX (871) 715 2964

e-mail: editorremdis@gmail.com