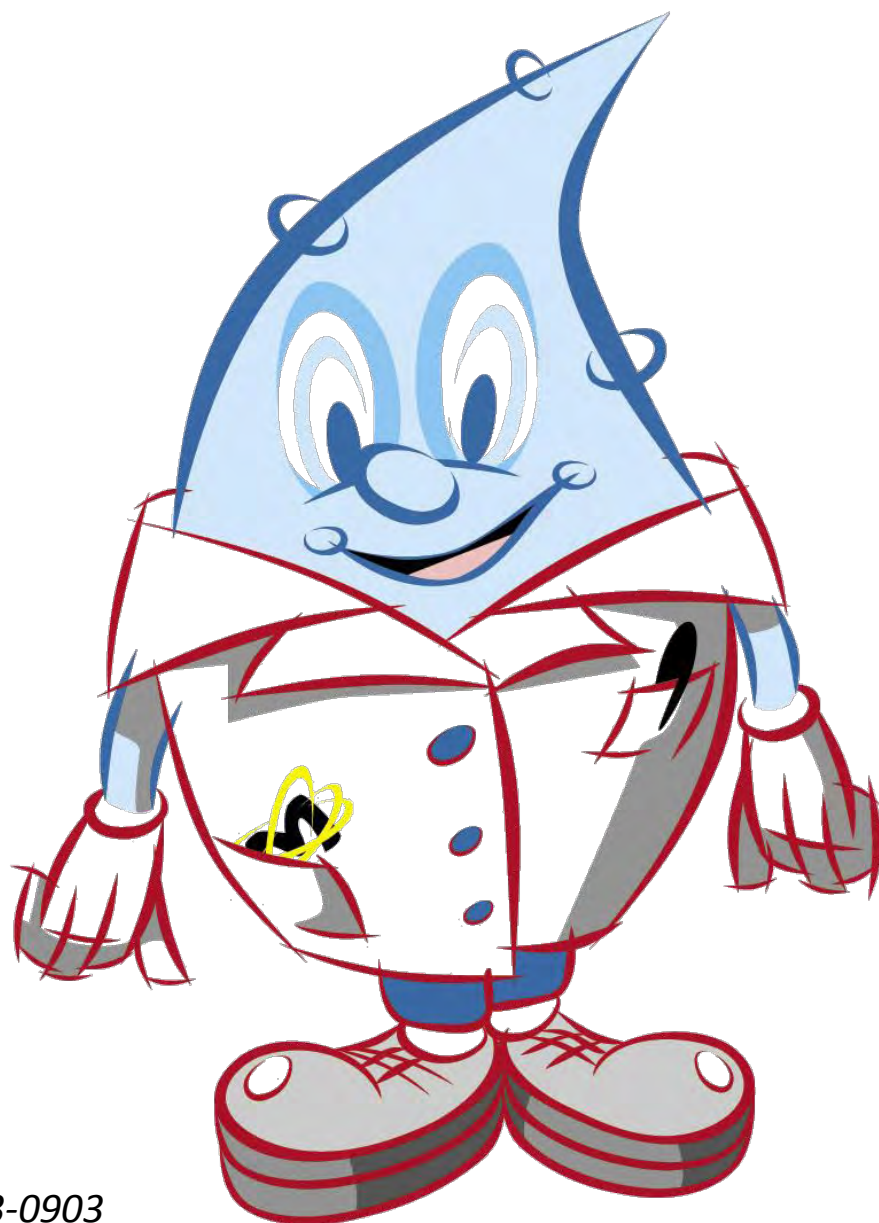


Moleola

Revista de Química de la
Universidad Pablo de Olavide

Número 10

Junio 2013



ISSN 2173-0903

Dibujo de portada

Mascota de la revista MoleQla

Logotipo y Título de la revista

Juan Manuel García Arcos, Rafael Hoyos Manchado y Rafael Iigo
Roció Escudero Ávila, Inés Maldonado Lasunción y Javier Revello Sánchez

Plantilla de la revista

Norberto Díaz Díaz

Responsables de las secciones que aparecen en este número

MoleQla Entrevista: Almudena Ponce Salvatierra
MoleQla General: Sofía Calero Díaz
MoleQla Ambiental: Elena García Pérez
MoleQla Bioinformática: Norberto Díaz Díaz
MoleQla Nutricional: Patrick J. Merklung
MoleQla Termodinámica y Cinética: Jesús Lavado García
MoleQla Viva: Guillermo López Lluch
MoleQla Sanitaria: Matilde Revuelta González

Responsables de maquetación de las secciones que aparecen en este número

MoleQla Entrevista: Cristina Guillén Mendoza
MoleQla General: Alina Georgiana Ioja
MoleQla Ambiental: Juan Antonio del Castillo Polo
MoleQla Bioinformática: Elena Santisteban Trigo
MoleQla Nutricional: María Remedios Domínguez Flórez
MoleQla Termodinámica y Cinética: Thomas Berger
MoleQla Viva: David Cabrerizo Granados
MoleQla Sanitaria: Rafael Blanco Domínguez
Maquetador Global: Rafael Rastrero Prieto

Información sobre todas las secciones de MoleQla en <http://www.upo.es/MoleQla>

Editores

Sofía Calero Díaz
Ana Paula Zaderenko Partida
Juan Antonio Anta Montalvo
Patrick J. Merklung

ISSN 2173-0903

Editado el 21 de Junio de 2013

Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

EDITORIAL

Bienvenidos al número de verano de la revista MoleQla. Lo más aparente al hojearla es el cambio de formato que se ha llevado a cabo, una decisión motivada por el mayor número de formatos procesables y la mayor flexibilidad resultante para los autores, y por otras comodidades como la de poder saltar a diferentes secciones siguiendo enlaces del índice de materias. El cambio de formato incluye una información ampliada sobre los autores de los artículos. La revista apuesta por igual por los alumnos sea cual sea la etapa de formación en la que se encuentren. Apelamos a la comprensión de los lectores si esto genera disparidades dentro de la revista, pero el beneficio de dar acceso a un amplio número de alumnos es inestimable. Además, la revista cuenta con contribuciones de investigadores veteranos que publican artículos novedosos de relevancia científica. Aunque son más difíciles de leer, os invito a enfrentarlos a ellos.

También es destacable que, como buen número de verano, la revista haya conseguido adelgazar. Nosotros los editores tenemos el propósito de evitar el efecto bumerang, a pesar de las numerosas contribuciones que nos llegan.

En este número, se amplía el espacio dedicado a la MoleQla Bioinformática, así como en general los artículos de sensibilidad "bio" recogidos en MoleQla Viva y MoleQla Sanitaria, conforme a las inclinaciones de nuestros principales contribuyentes, los estudiantes de biotecnología. ¡Y qué artículos! El abanico de temas aportados por todos ellos parece no tener límite. No mencionaré ninguno en particular, por temor a olvidarme de alguna joya, pero están aquí, a la vuelta de la hoja (electrónica). Por fin, no nos olvidemos de reconocer el trabajo y la creatividad de los maquetadores y responsables de sección sin los cuales este número nunca podría haber salido a la luz. Buen verano y buenas lecturas.



Patrick J. Merklng

ÍNDICE

1. MoleQla Entrevista

1.1 Elspeth Garman

2. MoleQla General

2.1 *Agua y minerales en asteroides: ¿hacia una nueva dimensión de la geopolítica de los recursos?*

2.2 *El propofol, el asesino del rey del pop*

2.3 *Polímeros inteligentes*

2.4 *La nicotina como agente terapéutico*

2.5 *Orígenes del Ácido Fórmico*

2.6 *La castración química: polémica solución*

2.7 *El levonorgestrel*

2.8 *Los alcanos en nuestra vida*

2.9 **IÓNOFOROS**

2.10 *La morfina: sus propiedades no descubiertas*

3. MoleQla Ambiental

3.1 *Los líquidos iónicos: propiedades y aplicaciones*

4. MoleQla Bioinformática

4.1 *R aplicado a la Bioinformática*

4.2 *BioJava: Framework para bioinformáticos*

4.3 *Introducción a la BioWeka*

4.4 *Problemática en la elección del número de cluster en el algoritmo de K-MEANS*

4.5 *Qué son y para qué se utilizan los BioChips*

4.6 *Algoritmos de agrupamiento basados en grafos*

5. MoleQla Nutricional

5.1 Evaluación analítica para la determinación de trihalometanos totales en aguas tratadas por método cromatográfico.

5.2 Hidrogenación de las grasas: la otra cara del doble enlace.

6. MoleQla Termodinámica y Cinética

6.1 Policaprolactona (PCL) y su aplicación a la regeneración tisular

6.2 Profesor, ¿qué es el Movimiento Browniano?

6.3 Trabajo y potencia generado por el corazón en un ciclo cardíaco

7. MoleQla Viva

7.1 Una puerta abierta contra el VIH.

7.2 Virus del SIDA y las nuevas tendencias terapéuticas.

7.3 Células NK: tolerancia y enfermedades autoinmunes.

7.4 Anticuerpos que traen recuerdos.

7.5 La isomería del organismo.

7.6 ¿Qué sabes sobre el Lupus Eritematoso Sistémico?

7.7 Tratamiento de la tuberculosis.

7.8 Phage Display: Anticuerpos fágicos.

7.9 Tratamiento novedoso para adelgazar: Vacunas Terapéuticas.

7.10 ¿Simple moléqlas orgánicas?

8. MoleQla Sanitaria

8.1 *IVACAFTOR, para dar un respiro.*

8.2 *Intolerancia a la Lactosa. ¿Por qué los mamíferos ya no pueden 'mamar'?*

8.3 *EPOC, cómo manejarla*

8.4 *Nuevas perspectivas en la vacuna Anti-VPH*

8.5 *La tuberculosis*

8.6 *Furanocumarinas y su aplicación en fotoquimioterapia*

8.7 *Resveratrol: el antioxidante más poderoso*

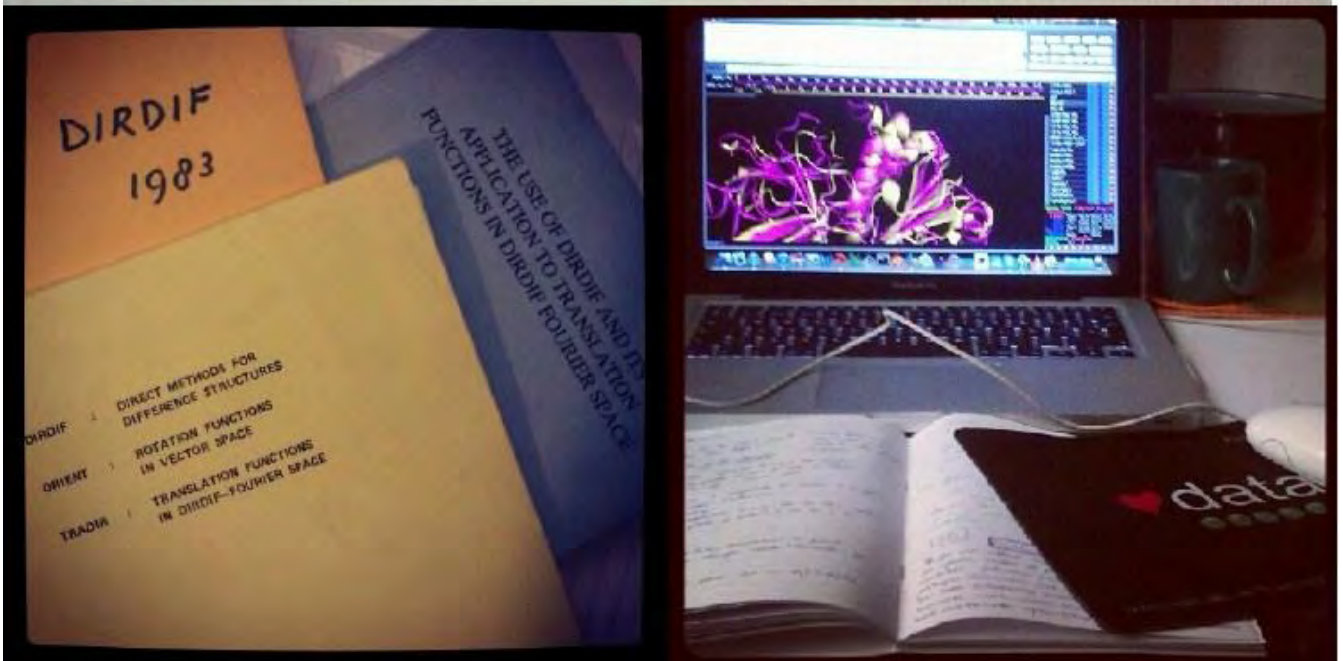
8.8 *Inmunoterapia. No hay mejor defensa que la que tenemos por defecto*

8.9 *Anti factor-TNF- α : Inhibiendo la acción de nuestras propias células*

MoleQla Entrevista



What is your idea of a perfect day?



Elsbeth Garman

Almudena Ponce Salvatierra

Resumen— Con una impresionante carrera científica a sus espaldas, Elspeth Garman es, además de una científica destacada, una mujer que ha demostrado carácter y entereza ante las dificultades que se presentan a lo largo de la vida; contagia su entusiasmo. Elspeth nos ofrece a través de su experiencia una perspectiva de cómo es la vida en el mundo de la ciencia.

Palabras Claves— Biofísica, cristalografía, daño por radiación.

¿QUIEN ES ELSPETH GARMAN?

Madre de 2 hijas y de una 1 hija adoptiva, la más importante; *gogo* -abuela en zulú - de 2 nietos adoptivos; profesora de Biofísica Molecular de la Universidad de Oxford; directora del Centro de Formación para doctorandos de Biología de Sistemas en Oxford; Co-Presidente del ECM28; miembro senior Kurti de la Universidad de Brasenose; y viuda del Dr. John Barnett (ver <http://www2.physics.ox.ac.uk/about-us> en el apartado 'Obituarios').

¿Cómo fueron tus comienzos?

Me encantaba la física en la escuela y decidí estudiar la licenciatura de Física. Mis padres no habían ido a la Universidad. Me presenté a los exámenes de ingreso de Cambridge para hacer ciencias naturales, pero no los superé.

Entonces me tomé desde el mes de diciembre hasta el mes de octubre del año siguiente como un 'año sabático' y me fui a Swazilandia en el sur de África para enseñar tecnología en una gran escuela secundaria en Manzini. Tuve que reemplazar a todos los demás maestros y terminé enseñando de todo, ¡a excepción de Zulu! Me encantó y llegué a la conclusión de que yo soy profesora por naturaleza.

Regresé y fui a la Universidad de Durham durante 3 años, donde me gradué la primera de la clase en Física (en la rama experimental). Tuve una beca de verano en el CERN en Ginebra a finales de mi segundo año y decidí que, aunque estaba muy interesada en la física nuclear, en realidad quería controlar más los experimentos por mí misma: en física nuclear de alta energía hay demasiada gente por experimento. Por lo que solicité una plaza en el departamento de física nuclear de la Universidad de Oxford para hacer el doctorado en *Estructura Nuclear Experimental*, el cual obtuve en 1980.

Me casé con mi casero en 1979. Él tenía una plaza permanente de investigación en física atmosférica en Oxford, amaba su trabajo, así que este hecho determinó lo que hice a continuación. Durante siete años, después de mi doctorado, tuve una beca, a continuación estuve contra-

tada como investigadora post doctoral seis años más. Durante este tiempo enseñé física en la Universidad, incluyendo el *Somerville College*, donde la señora Thatcher estudió y donde conocí a Louise Johnson, un biofísico con quien hablé de lo que iba a hacer a continuación.

En ese momento (1987) el dinero para física nuclear se estaba acabando, y me dije: "Oh, no sé, parece que voy a tener que cambiar de campo". Realmente no quería pensar en lo que pasaría cuando mi contrato con ellos se acabase el año siguiente: tenía una hija de 3 años y a mi suegra, bastante mayor, que vivía con nosotros. Estaba atada. Louise me dijo que en su laboratorio de Biofísica molecular, buscaban un técnico adecuado para sacar partido al nuevo equipo de rayos X para cristalografía de proteínas que iban a adquirir. Fui al laboratorio al día siguiente a echar un vistazo. Bueno, me mudé allí 4 semanas más tarde, sin haber hecho nada de biología y sin saber lo que era un aminoácido.

Trabajé dos tercios de la jornada durante los siguientes 16 años, cuidando y gestionando las instalaciones de rayos X hasta 1999, cuando empecé mi propio grupo. Volví a trabajar la jornada completa en 2003. Mientras tanto, tuve otra hija, en 1991. Adopté una hija swazi de 13 años en 1995, cuando su madre, mi alumna durante 1973, murió. Mi hija se quedó en un internado en su país, para evitar desarraigo.

En 2003, yo estaba en mi noveno contrato temporal después de haber acabado mi doctorado y pensé que debería buscar un trabajo "de verdad". Para entonces yo había trabajado en crio-cristalografía, impartido clases por todo el mundo, y tenía un buen número de publicaciones, alrededor de 80. Después de una negociación difícil, la Universidad me hizo un contrato permanente hasta la jubilación (2019) y me adquirí nuevas responsabilidades docentes en el departamento de bioquímica.

-¿Qué impresión tenías de ti misma cuando empezaste el doctorado?

Me faltaba confianza en mí misma y pensaba que no era lo suficientemente inteligente como para hacer investigación. Pero me encantaba la ciencia (descubrir cosas), y yo quería tener una oportunidad.

-¿Qué fue lo mejor y qué fue lo peor de tu doctorado?

Lo mejor de mi tesis fue un proyecto para desarrollar un método que analizara carbono 14 mediante espectrometría de masas acelerada. Tuve que diseñar y fabricar una pieza vital del equipo en mi mismo taller y, a continuación, usarla en la línea de física nuclear.

La peor parte fue que pasé dos años tratando de detectar un efecto, publicado por un grupo americano, en los núcleos de masa media y todos mis resultados fueron negativos. Aún así tuve que escribir algo acerca de ello porque la financiación que tenía tocaba a su fin.

Una semana antes de la defensa de mi tesis, el mismo grupo estadounidense se retractó de los resultados de este trabajo ya que se habían dado cuenta de que el efecto observado era en realidad un problema de ruido de fondo. De modo que me pasé dos años buscando algo que en realidad nunca estuvo ahí.

-¿La “liaste” muchas veces? Cuéntanos una anécdota divertida.

No, no “la lié” demasiadas veces. Los equipos eran muy caros y teníamos que tener muchísimo cuidado. Recuerdo que un día estaba caminando por la línea y, cubierto, detrás de algo que no recuerdo, había un ventilador. Llevaba puesta una falda, cuando pasé por el lado del ventilador la falda se abrió completamente y me quedé en ropa interior frente a los dos post-doc que me acompañaban; todos en física nuclear eran hombres, salvo las secretarías. Me dio mucha vergüenza, pero también fue muy divertido.

-¿Cuál fue tu motivación?

La curiosidad. Para mí fue un paso obvio después de acabar la licenciatura, yo no hice ningún master.

-¿Qué haces actualmente y por qué?

Desarrollo técnicas de biología estructural para mejorar el campo en sí; por ejemplo crio-cristalografía, microPIXE (emisión de rayos X inducida por protones) para analizar metales en proteínas, y el daño por radiación en estudios sistemáticos.

-Como jefa de grupo ¿qué buscas en un potencial estudiante de doctorado para tu laboratorio?

Curiosidad y entusiasmo.

-Participas en comités de selección para programas de doctorado y haces entrevistas continuamente a estudiantes que quieren formar parte de este mundo. ¿Qué esperas de un candidato?

Llevo unas 60 entrevistas como las que comentas al año, en el Centro de Formación Doctoral de Oxford. El centro es interdisciplinario y por eso entrevisto a matemáticos, bioquímicos, ingenieros, químicos, físicos, informáticos... Se esperan respuestas razonables, especialmente si se trata del proyecto que el alumno ha realizado durante su máster, y se puede esperar que profundicen en el tema. Tienen que demostrar ser bastante curiosos sobre el tema de su proyecto y manifestar interés por comprender el a

fondo el mismo, así cómo los métodos utilizados para llevarlo a cabo.

-¿Qué diferencias encuentras entre las palabras jefe y líder?

Un jefe te dice lo que tienes que hacer, mientras que un líder te enseña a desarrollar tu talento y a madurar como investigador.



Elsbeth Garman, vestida para la ocasión: la boda de uno de sus post-docs en India, el pasado mes de marzo. Imagen de archivo.

-Ser ambicioso, competitivo y saber trabajar en grupo son cualidades importantes en investigación. ¿Cuál es para tí la más necesaria y cómo las puntuarías del 1 al 10?

Lo más importante para mí es saber trabajar en equipo: 8. No es importante para la mayoría de la gente ser un buen *team player* y creo que esto es lamentable. Con personas que saben trabajar en equipo el ambiente de trabajo es más agradable y divertido. Por lo tanto me esfuerzo por alentar a que en mi grupo todos se preocupen por ser buenos compañeros.

Competitividad: 6. Muchos de los investigadores más reconocidos han alcanzado sus puestos sin tener en cuenta el efecto de sus acciones sobre las personas que los rodeaban. Prefiero aunar esfuerzos y colaborar. He tenido éxito al hacer esto trabajando duro en ello.

Ambición: 7. Es la necesidad de querer tener éxito, pero sin pisotear a los demás.

-Hay puestos de trabajo en investigación y doctorados que se ofertan solo a mujeres o, que las animan especialmente a solicitar estas plazas. ¿A qué se debe esto? ¿Has sentido alguna vez un tratamiento diferente por el hecho de ser mujer en el mundo de la ciencia?

Nunca he visto una oferta así. Me siento ambivalente al respecto.

Sí, he experimentado un tratamiento diferente. En física nuclear en particular. La cristalografía es mucho mejor en ese aspecto, y tiene además una larga historia de grandes mujeres que han contribuido a su desarrollo. Los mentores son importantes y también lo es el apoyo familiar.

-En una entrevista, a la pregunta “¿cómo te ves en 10 años?” ¿Qué se puede responder? ¿Hay que mentir?

No, nunca mientas. Si no lo sabes, deberías decir “no lo sé”, está bien no saber. Es posible que uno haya pensado en varias posibilidades, por ejemplo, ser jefe de un grupo, trabajar en industria... A medida que uno crece en madurez algunas de estas ideas pueden convertirse en oportunidades.

Por un lado, siempre existe la complicación de tener una familia a los años 30, justo cuando los hombres están estableciendo sus carreras. Algunos países han abordado este hecho mucho mejor que otros, por ejemplo, Suecia es fantástico.

-En tu opinión, ¿por qué es cristalografía un buen campo para hacer un doctorado?

Interesantes, y hermosas estructuras que nadie ha visto nunca; aprender, desarrollar diferentes habilidades: informática, recogida de datos en grandes instalaciones, biología molecular... Hoy en día, hay que nutrirse de otras técnicas también para poder responder a todos los enigmas que se plantean.

-¿Hay algo, de manera general, de lo que un estudiante, que aspira a realizar un doctorado, carece al principio?

Lo que les falta depende fundamentalmente de su procedencia, y de lo que ellos quieren hacer. Por supuesto, es el supervisor el responsable de evaluar rápidamente las necesidades de los estudiantes y, a continuación, asegurarse de que se proporciona la formación necesaria. Sin embargo, el estudiante también debe ser realista y estar prepa-

rado para afrontar los retos que surjan para llevar a cabo el proyecto propuesto. Tiene que estar dispuesto a aprender.

Esta transición puede ser más suave. Por ejemplo, el programa DTC (*Doctoral Training Centre*) lo hace en términos de habilidades de investigación con 2 proyectos de investigación cortos de 10 semanas cada uno para que los estudiantes puedan ver si se sienten cómodos con el ambiente en el grupo y si se adaptan a la investigación. Por desgracia, a menudo la financiación está ligada a otros factores, de manera que hace que esto no sea siempre posible.

-¿Tienes alguna afición?

Hacer senderismo, viajar y pasar tiempo con mis hijas.

-Cómo afecta la diferente procedencia de los integrantes de tu grupo al día a día del laboratorio?

Mi laboratorio es muy agradable y fomenta el desarrollo de un ambiente amigable. Me gusta que los estudiantes se cuiden entre ellos en todo momento.

Muchos estudiantes son extranjeros: en 2009, mi grupo estaba formado por un ruso, un indio, un jordano y 2 mexicanos. Creo que la mezcla enriquece a todos y es muy importante. Es uno de los mejores aspectos de mi trabajo aquí en Oxford. Ahora mismo mi grupo lo forman un alemán, un jordano, un coreano y 2 británicos.

AGRADECIMIENTOS

A Elspeth Garman por su amabilidad y constante disponibilidad.



Almudena Ponce-Salvatierra

recibió el título de Licenciado en Farmacia por la Universidad de Sevilla en 2011, y de Máster en Cristalografía y Cristalización por la Universidad Internacional Menéndez Pelayo en 2012. Después de un año y medio trabajando en cristalografía de proteínas en el CSIC, se mudó a Alemania. En la actualidad lleva a cabo sus estudios de doctorado en el Instituto Max Planck de biofísica química en Göttingen.



MOLEQLA GENERAL

Agua y minerales en asteroides: ¿hacia una nueva dimensión de la geopolítica de los recursos?

José Antonio Peña-Ramos

Resumen—El 15 de febrero de 2013 el asteroide 2012 DA14 pasó a unos 28.000 kilómetros de la Tierra -una distancia muy exigua en términos astronómicos- a una velocidad de aproximadamente 28.000 kilómetros por hora. Este acontecimiento, sumado al impacto aquel mismo día -fuese un hecho coincidente o derivado del primero- de un pequeño asteroide sobre Rusia que hirió a más de mil personas y causó importantes daños materiales, ha reabierto el debate sobre el problema real de seguridad que plantea para la Humanidad este tipo de fenómenos astronómicos. Sin embargo, también ha reabierto el debate y el interés por la posibilidad de aprovechamiento de los múltiples recursos diferentes que contienen estos cuerpos celestes, por ejemplo, agua y minerales. Se trata, como veremos en el presente artículo, de una posibilidad que parece cada vez menos futurista, y que podría introducir en las próximas décadas una nueva dimensión en la geopolítica de los recursos.

Palabras Claves— Agua, Asteroides, Geopolítica de los recursos, Minerales, Tecnología robótica.



1. INTRODUCCIÓN

El 15 de febrero de 2013 el asteroide denominado 2012 DA14 y detectado un año antes por el Observatorio Astronómico de La Sagra (Granada) [1] se acercó peligrosamente a nuestro planeta; concretamente a unos 28.000 kilómetros, una distancia, sin duda, inquietante.

Fuese o no casualidad, el mismo 15 de febrero un asteroide de tamaño reducido impactó sobre la región rusa de Chelyábinsk y provocó lesiones de diferente consideración -algunas graves- a más de mil personas y cuantiosos daños materiales, más de 23 millones de euros (€) según las autoridades regionales (sobre todo por la rotura de cristales en miles de viviendas). Edificios como el Palacio de Hielo resultaron seriamente dañados. Incluso la vecina Kazajstán se vio afectada por la potentísima onda expansiva.

Ambos acontecimientos han venido a demostrar una vez más que estos fenómenos astronómicos plantean a la Humanidad un problema de seguridad real y de primera magnitud. No en vano, sobre él se viene trabajando con una intensidad creciente en los últimos años desde diversas instancias nacionales e internacionales, estatales y privadas, con el objetivo de desviar la trayectoria de estos cuerpos o de destruirlos antes de su impacto sobre la Tierra.

2. EMPRESAS PIONERAS Y RECURSOS EXPLOTABLES

Sin embargo, también es creciente el número de quienes consideran que los asteroides podrían ser de una gran

utilidad y constituir una oportunidad para el género humano. Uno de ellos es el cofundador de Google, Larry Page, inversor de la empresa Planetary Resources.

Se trata de una de las dos empresas estadounidenses -la otra se denomina Deep Space Industries (DSI)- que se encuentran trabajando actualmente en la posibilidad de aprovechar los múltiples recursos que contienen estos cuerpos, y que colaboran con la National Aeronautics and Space Administration (NASA).

Planetary Resources estima que a más de 1.500 asteroides se podría tener acceso con igual facilidad que a la superficie de la Luna. Podemos distinguir tres tipos de recursos valiosos que pueden contener estos asteroides.

- a) En primer lugar, recursos hídricos sólidos, que son los primeros que pretende explorar dicha empresa;
- b) en segundo lugar, elementos como, por ejemplo, rutenio, rodio, paladio, osmio, iridio y platino;
- c) y, en tercer lugar compuestos como hierro, níquel, cobalto, nitrógeno, monóxido de carbono, dióxido de carbono o metano.

Hay que tener presente que según Planetary Resources algunos asteroides contienen metales en concentraciones mucho mayores que las minas más ricas de nuestro planeta, y que, a diferencia de la Tierra, los asteroides poseen también en su superficie metales pesados, lo que

podría facilitar su extracción, desde un punto de vista tanto tecnológico como de abaratamiento de unos costes que hasta ahora hacen de la minería espacial una actividad que requiere una inversión inasumible.

3. TECNOLOGÍA ROBÓTICA, COSTES Y BENEFICIOS

Pese a ello, y aunque expertos mundialmente prestigiosos como el Catedrático de Ciencias Planetarias del Massachusetts Institute of Technology R. P. Binzel consideran que la minería espacial es aún una industria del futuro, DSI ha proyectado para la década 2010-2020 la realización de misiones no tripuladas sorprendentemente baratas, exploratorias y de recogida de muestras, que emplearán microsátélites de investigación o naves de diseño propio. Tal es el caso, por ejemplo, de la “cosechadora” *Harvestor*, cuya recreación aparece en la Figura 1.



Fig. 1. Recreación artística de la *Harvestor* (DSI)

Del mismo modo Planetary Resources se encuentra actualmente desarrollando tecnología -en particular robótica- como:

- a) un telescopio, el ‘*Leo’ Space Telescope* (Arkyd Series 100);
- b) un interceptador, el *Interceptor* (Arkyd Series 200);
- c) y un prospector, el *Rendezvous Prospector* (Arkyd Series 300) [2].

DSI ha calculado en unos 50.000 millones € el beneficio en agua recuperable del asteroide 2012 DA14, y en aproximadamente 100.000 millones € el beneficio en metales [3]. Entre otros proyectos, DSI pretende capturar y arrastrar literalmente los asteroides para acercarlos -como paso previo a su aprovechamiento- a la órbita terrestre, donde incluso podrían hacer las veces de “estaciones de

servicio” para satélites y viajes espaciales, tanto tripulados como no tripulados.

4. UNA NUEVA DIMENSIÓN DE LA GEOPOLÍTICA DE LOS RECURSOS

Queda por tanto esperar si, por ejemplo, DSI se encontrará efectivamente en 2015 -fecha prevista por la propia empresa- en condiciones de realizar el envío de la primera misión exploratoria (previsiblemente sólo de ida y con una duración de varios meses) para localizar los primeros asteroides aprovechables. Con independencia de que se retrase o no esa fecha, y de la fecha concreta en que se exploten los primeros recursos, ello verdaderamente supondría un hito que, aunque a largo plazo, inauguraría una nueva dimensión -y no menor- de la geopolítica de los recursos.

Esta dimensión ofrecería a los países, por un lado, nuevos espacios para la cooperación, pero, por otro lado, también nuevos escenarios de conflicto, sobre todo entre las grandes potencias, que liderarían el aprovechamiento de los recursos de los asteroides.

Han sido y son muchas las experiencias de aprovechamiento no conflictual entre países de los recursos, pero también éstos han sido el objeto de sangrientas y destructivas guerras libradas a lo largo de la Historia, que además, en el caso de estas hipotéticas guerras del futuro, incluirían, como mínimo, un componente revolucionario, derivado de la posibilidad de trasladar el campo de batalla nada menos que al espacio exterior, con las imprevisibles consecuencias que ello supondría, así como el empleo de nuevas armas desarrolladas paralelamente a la tecnología para la explotación de los recursos.

5. CONCLUSIONES

La existencia de asteroides próximos a nuestro planeta constituye un problema de seguridad real y de primera magnitud para la Humanidad, como quedó demostrado el 15 de febrero de 2013 con el paso muy cercano a la Tierra del asteroide 2012 DA14 y con el impacto sobre Rusia de un pequeño asteroide que causó más de mil heridos e importantes daños materiales.

Sin embargo, estos cuerpos también podrían constituir para la Humanidad una gran oportunidad desde el punto de vista del aprovechamiento de los múltiples recursos diferentes que contienen, como agua y minerales. De hecho, dos empresas estadounidenses ya se encuentran interesadas en explorar en el corto plazo las posibilidades para dicho aprovechamiento que, si a más

largo plazo fuese una realidad, inauguraría una nueva y relevante dimensión de la geopolítica de los recursos que ofrecería a los países nuevos espacios tanto para la cooperación como para el conflicto; sobre todo entre las principales potencias, que serían las que lideraran el aprovechamiento de los recursos de los asteroides. En este último caso las hipotéticas guerras del futuro por los recursos incluirían, como mínimo, un componente revolucionario, como consecuencia de la posibilidad de trasladar el campo de batalla al espacio exterior, así como la introducción de nuevo armamento.

REFERENCIAS

- [1] Web del Observatorio Astronómico de La Sagra.
<http://www.minorplanets.org/OLS/> (Enlace web)
- [2] Web de Planetary Resources. <http://www.planetaryresources.com/>
(Enlace web)
- [3] Web de Deep Space Industries.
<http://deepspaceindustries.com/>(Enlace web)



José Antonio Peña-Ramos recibió los títulos de Licenciado en Ciencias Políticas y de la Administración y de Licenciado en Sociología por la Universidad de Granada en 2005 y 2006, respectivamente, y de Doctor en Ciencia Política en 2009 por la Universidad de Granada. Desde 2006 hasta 2010 fue Personal Docente e Investigador de dicha universidad. Actualmente es miembro de la Universidad Pablo de Olavide,

de Sevilla, en donde imparte las asignaturas Métodos y Técnicas de Investigación en Ciencia Política, y Sistema Político Español. Su interés investigador incluye la geopolítica de los recursos, las políticas públicas de defensa, las estrategias de seguridad nacional y los grupos de interés religioso islámico.

El propofol, el asesino del rey del pop

Ana Belén Díaz Méndez

Resumen— El propofol es una molécula orgánica esencial en muchas intervenciones quirúrgicas al ser utilizado como anestésico. Presenta uniones con los receptores GABAA del sistema nervioso central, que contribuye a que el tiempo de acción de esta molécula sea mínimo. Por esta razón, entre otras, se ha vuelto muy popular en los últimos tiempos.

Palabras Claves— Propofol, anestesia, mecanismo de acción.

En nuestro día a día estamos acostumbrados a oír hablar sobre la anestesia, pero no sabemos que tipo de moléculas se usan como anestésicos. Una de estas moléculas es el propofol, muy popular por ser el causante de la muerte de Michael Jackson o por la gran controversia que ha causado recientemente por ser propuesto para ser usado en ejecuciones, pero ¿por qué es un anestésico tan importante? ¿Cómo funciona en nuestro organismo?

El propofol (2,6-diisopropilfenol) surgió a principios de los años setenta como consecuencia de la investigación de los derivados sustituidos del fenol con propiedades hipnóticas. Es un agente anestésico liposoluble intravenoso de corta duración introducido para el uso clínico en 1977. Se disuelve en aceite de soja y lecitina de huevo para que se pueda introducir bien en el organismo y así poder llevar a cabo su función en este. Fue aprobado para ser usado en la anestesia general en pacientes adultos y pediátricos mayores de 3 años. Con él se consigue una rápida inducción al sueño en casos de anestesia general o una sedación moderada. Es, probablemente, el tipo de anestesia general más ampliamente utilizada.

En cuanto a su naturaleza, el propofol presenta un carácter lipófilo, esto significa que posee una buena solubilidad en lípidos, necesaria para que el agente anestésico pueda atravesar la barrera sangre-cerebro pero, desgraciadamente, el carácter lipófilo del compuesto da como resultado que éste sea insoluble e inmiscible en agua y, por tanto, que no se pueda formular con facilidad una inyección intravenosa (Figura 1).

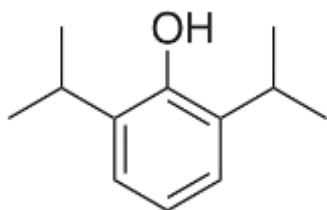


Fig. 1. Molécula de propofol

La preparación original contenía como agente tensioactivo aceite de ricino polietoxilado, pero la aparición de dolor en la inyección y reacciones anafilactoides obligaron a que se buscasen formulaciones alternativas. Posteriormente, se encontró que se puede obtener una formulación

inyectable de propofol utilizando un disolvente tipo isosorbida, conteniendo la composición final un 2,25% de glicerol, un 10% de aceite de soja y un 1,2% de lecitina de huevo. Con esta reformulación de la droga en una emulsión de huevo-aceite-glicerol se ha eliminado la hipersensibilidad de las reacciones que se producían con la formulación original, siendo así óptima para ser aplicada como anestésico (Figura 2).



Fig. 2. Propofol

La dosis de propofol requerida para inducir la anestesia medida por pérdidas de reflejos palpebral en el 95% de pacientes sanos no premedicados es de 1,5 a 0,5 mg/kg. La gama de tiempos de inducción ronda entre los 22 y 125 segundos. La rápida pérdida de la consciencia se debe a la absorción inmediata de esta droga liposoluble por el sistema nervioso central. Después de varios minutos de administración intravenosa, la concentración plasmática de propofol se reduce, debido a su distribución por todo el cuerpo y a su absorción por los tejidos periféricos. Se ha propuesto que esta molécula tiene varios mecanismos de acción, por un lado a través de la potenciación de la actividad de los receptores GABAA, ralentizando de este modo el tiempo de canal de cierre y actuando como un bloqueador de canal de sodio. Por otra parte, investigaciones recientes también han sugerido que el sistema endocannabinoide puede contribuir de manera significativa a la acción de este anestésico.

El receptor GABAA es el principal neurotransmisor inhi-

bidor en el sistema nervioso central. Cuando se activan los receptores GABAA, aumenta la conductividad transmembrana del cloruro, que implica una hiperpolarización de la membrana celular postsináptica y la inhibición funcional de la neurona postsináptica. El mecanismo de interacción del propofol con los componentes específicos de los receptores GABAA hace disminuir la tasa de disociación del neurotransmisor inhibitorio GABAA a partir del receptor, aumentando así la duración de la apertura de GABA-activada del canal de cloruro con una hiperpolarización resultante de las membranas celulares (Figura 3). Tanto la inmovilización como la depresión respiratoria en el mecanismo de acción propofol son mediados por receptores GABAA-beta3 y GABAA-beta2; mientras que la hipotermia, depresión cardíaca y acciones sedantes son, en gran medida, independientes de los receptores GABA-beta3.

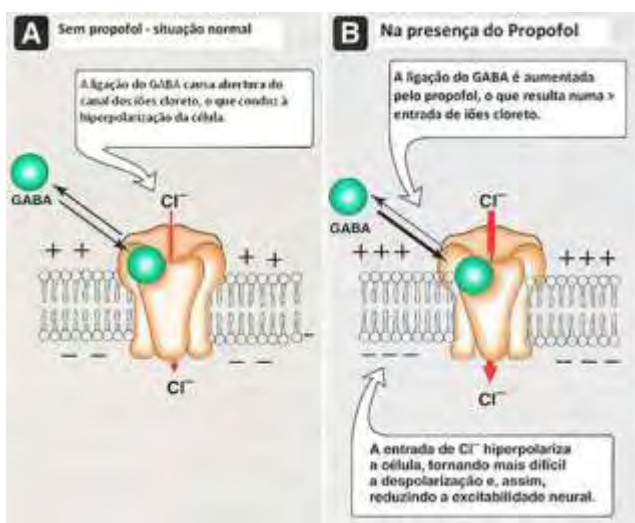


Fig. 3. Mecanismo de acción en el canal GABAA.

Como hemos comentado anteriormente, el propofol también interactúa con el sistema endocannabinoide. Esto se debe a que este anestésico se asocia con alteraciones del estado de ánimo postoperatorias, e induce una mayor incidencia de sueño en comparación con otros anestésicos generales. Estos efectos pueden estar mediados por su acción inhibitoria en la hidrolasa de amida de ácido graso, la enzima que degrada el endocannabinoide anandamida. Debido a que el propofol también se asocia con una mayor incidencia de los recuerdos traumáticos de la conciencia perioperatoria y el tratamiento intensivo en la unidad de cuidados y, puesto que el sistema endocannabinoide está implicado en la regulación de consolidación de la memoria de experiencias emocionales, varios investigadores están investigando si el propofol, a dosis anestésicas, modula la consolidación de la memoria a través de una activación del sistema endocannabinoide.

El propofol se une extensamente a las proteínas plasmáticas, aproximadamente el 97-98% está destinado a la albúmina. Después de la inyección intravenosa, la concentración plasmática de propofol disminuye. La caída inicial es extremadamente rápida (vida media 1-3 min). A medida que la concentración en sangre de propofol va disminuyendo, se va difundiendo desde el sistema nervioso central hasta incorporarse a la circulación sistémica; cuando la dosis de propofol es ya demasiado baja, se produce una rápida recuperación de la plena conciencia. Estas propiedades ventajosas han contribuido a la popularidad de propofol. Aproximadamente el 70% de la dosis se excreta en la orina dentro de las 24 horas después de la administración y 90% se excreta ya pasados aproximadamente unos 5 días. A la hora de recuperar el conocimiento se produce un hecho curioso, y es que éste se recupera antes en mujeres que en hombres, la razón de esto no está clara aunque se sigue investigando, es posible que las mujeres tengan una disminución más rápida de la concentración plasmática de propofol después de la terminación de la inyección, o simplemente puede haber diferencias de género en la sensibilidad de este anestésico.

El propofol fue un gran desconocido hasta que en 2009 se reveló la autopsia de Michael Jackson, siendo una sobredosis de propofol la causante de su muerte. A partir de aquí, la venta de propofol se ha incrementado en el mercado, ya que se trata de un medicamento que no requiere riguroso control, y ahora forma parte de una droga muy consumida por drogodependientes. Además, en 2012 se propuso usar propofol para llevar a cabo ejecuciones de presos condenados a la pena de muerte en países como Estados Unidos. El primer estado que lo utilizó fue Missouri, que lo aprobó en mayo del 2012. Este tema causó gran controversia en la sociedad y en las empresas farmacéuticas de todo el mundo, especialmente en las europeas, que se negaban a suministrar a las cárceles estadounidenses propofol para llevar a cabo las ejecuciones. Hoy en día este tema sigue en debate.

En la actualidad existen gran cantidad de moléculas orgánicas que están muy presentes en nuestro día a día y son beneficiosas. Un ejemplo es el caso del propofol, muy presente en hospitales, es esencial para poder realizar operaciones quirúrgicas, entre otros tratamientos. Por tanto, podemos decir que es 'buena' para el ser humano. Sin embargo, a pesar de su importancia no es reconocida en la sociedad por su papel principal en el organismo y por sus magníficas características, que la han hecho convertirse en uno de los anestésicos estrella, sino que se asocia con la drogodependencia o con la muerte debido a un uso inadecuado.

REFERENCIAS

- [1] www.wikipedia.com
- [2] <http://naukas.com/2011/02/14/propofol-nueva-sustancia-de-abuso/>
- [3] <http://es.scribd.com/doc/17189860/PROPOFOL>
- [4] <http://michaelforever-patymjlove.blogspot.com.es/2012/05/el-propofol-sera-utilizado-para.html>
- [5] http://www.espatentes.com/pdf/2232195_t3.pdf
- [6] Antigona Hasani, Hysni Jashari, Valbon Gashi and Albion Derivishi (2012). Propofol and Postoperative Pain: Systematic Review and Meta-Analysis, Pain Management - Current Issues and Opinions, Dr. Gabor Racz (Ed.), ISBN: 978-953-307-813-7
- [7] <http://anesthesiageneral.com/propofol-mechanism-of-action/>
- [8] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10637364>
- [9] Hauer D, Ratano P, Morena M, Scaccianoce S, Briegel I, Palmery M, Cuomo V, Roozendaal B, Schelling G, Campolongo P. "Propofol enhances memory formation via an interaction with the endocannabinoid system".
- [10] bjournal.oxfordjournals.org/content/95/5/627.full.pdf



Ana Belén Díaz Méndez, estudiante de primero en el Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide en Sevilla.

Polímeros inteligentes

Jesús Porcuna Doncel

Resumen— ¿Serías capaz de imaginar que las cosas que tengas a tu alrededor pudiesen responder a lo que quisieses de la forma que quisieses? No lejos de la ciencia ficción, este hecho se está consiguiendo. Efectivamente, hablamos de los polímeros inteligentes. Con este artículo pretendo haceros más cercano qué es un polímero inteligente, y algunos ejemplos sorprendentes.

Palabras Claves— polímeros inteligentes, poliacrilato de sodio, autorreparación, PIPAAm, Azobeceno.



1. INTRODUCCIÓN

¿Qué es un polímero inteligente?, veamos la definición del Informe de vigilancia tecnológica sobre polímeros inteligentes del proyecto Madri+d: “Es aquel que ante un estímulo exterior sufre cambios en sus propiedades físicas y/o químicas.” Bajo esta definición tan sencilla, se encuentra un gran campo de investigación que está revolucionando la forma de ver la química, y sus aplicaciones tanto en el mundo actual como en el futuro.

La primera vez que se acuñó el término polímero inteligente se hizo en un artículo periodístico de 1989, en el que se describía cómo un grupo de investigadores de la Universidad de Michigan utilizaba fluidos electrorreológicos para crear materiales inteligentes. Desde ese momento el mundo de los polímeros inteligentes ha ido tomando cada vez más relevancia, se han descubierto nuevos usos y aplicaciones de estas uniones de monómeros tan sorprendentes. [1]

Y como no podía ser menos en el mundo de la ciencia, se ha creado una clasificación, que es la siguiente:

- Atendiendo al estímulo que reciben:
 - .Temperatura.
 - .pH.
 - .Luz.
 - .Campo eléctrico.
 - .Campo magnético.
 - .Reconocimiento molecular.
- Atendiendo a la respuesta que dan una vez estimulados:
 - .Hinchazón/contracción.
 - .Flexión.
 - .Color.
 - .Cambio de estado.
 - .Luminiscencia.
 - .Conductividad.

A continuación se van a mostrar unos ejemplos de algunos polímeros inteligentes.

2. EJEMPLOS

2.1. Poliacrilato de sodio

El poliacrilato de sodio pertenece al mundo de los polímeros inteligentes por ser considerado un polímero superabsorbente. Estos polímeros superabsorbentes están formados por una enredada malla de ácido acrílico y copolímeros de este ácido con almidón formando sales sódicas.

En el caso del poliacrilato de sodio, su capacidad de absorber grandes cantidades de agua se encuentra en razones tanto físicas como químicas. El poliacrilato de sodio es un compuesto formado por largas cadenas de carbono en las que encontramos grupos iónicos: COO^- y Na^+ . En presencia de agua, el Na^+ se desprende de la cadena, quedando la cadena del polímero desestabilizada eléctricamente ya que solo hay repulsión de los grupos negativos de los COO^- residentes en la cadena, lo cual provoca un reordenamiento de la malla y un aumento de su volumen. Es este aumento del volumen es el que permite que quepan más moléculas de agua dentro del polímero y de ahí su capacidad superabsorbente (Fig.1). [2]

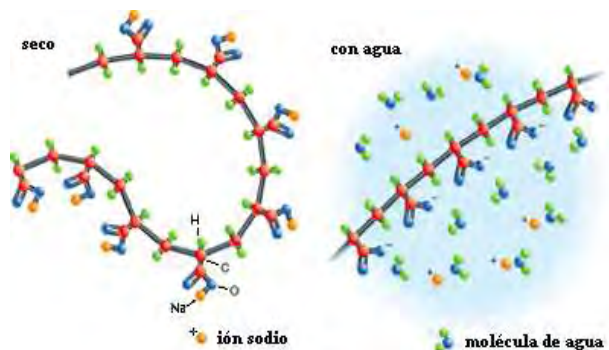


Fig. 1. imagen de cómo se comportaría el polímero en un medio seco y en uno con agua. Imagen obtenida de <http://centros5.pntic.mec.es/ies.victoria.kent/Rincon-C/Curiosid/Rc-39/polim.gif>

Se ha demostrado que este tipo de polímeros es capaz de absorber hasta 200 y 300 veces su propio peso de agua destilada, y menor cantidad de agua con iones disueltos. Esta capacidad de absorber esas grandes cantidades de agua ha hecho de este polímero una gran herramienta en muchos campos: en la agricultura ayudan a retener mayores cantidades de agua en la tierra, también son utilizados para absorber líquidos de cadáveres en autopsias, se han creado objetos lúdicos como la nieve instantánea o las perlas de agua, y muchos usos más. Sin embargo, el que más destaca es el uso que han hecho las empresas de pañales y de compresas de este polímero para mejorar sus productos.

2.2. Material autorreparable

El estudio de polímeros que sean capaces de formar un material autorreparable está siendo observado muy de cerca por las empresas automovilísticas, ahora veréis el porqué.

El organismo más avanzado en este estudio es la universidad de Mississippi. Han conseguido crear un material por montaje supramolecular, esto es, a un polímero sencillo se le añaden, ya sea a la cadena o dentro de la malla que forme el polímero, otras estructuras químicas para mejorar capacidades o para hacer que aparezcan capacidades nuevas. Este es el caso del material autoreparable del que estamos hablando; está formado por cadenas de poliuretano (polímero que se obtiene mediante condensación de bases hidroxílicas combinadas con disocianatos[4]) que da elasticidad, y a su vez resistencia a arañazos y roturas; y por otro lado, el componente reparador: oxetano (OXE) y chitosán (CHI).

El funcionamiento de este polímero se basa en que cuando el material es dañado, la estructura en anillo del oxetano se abre creando dos terminales reactivos. En presencia de luz ultravioleta, el chitosán se activa, produciendo así la unión de las cadenas de oxetano, y reparándose así el mismo (Fig.2). [3]

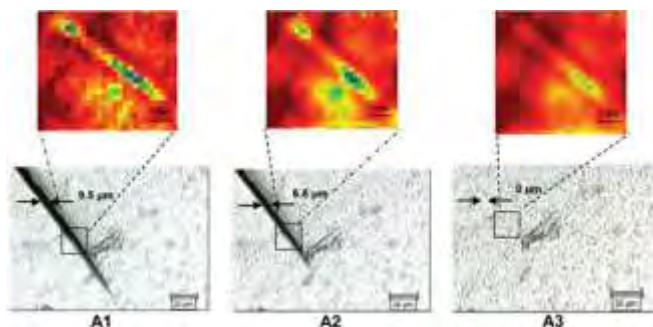


Fig. 2. Microfotografías en las que se observa cómo se repara una grieta en el material tras ser enfocado con luz ultravioleta.

Obtenida de: <http://i53.tinypic.com/2zf018l.jpg>

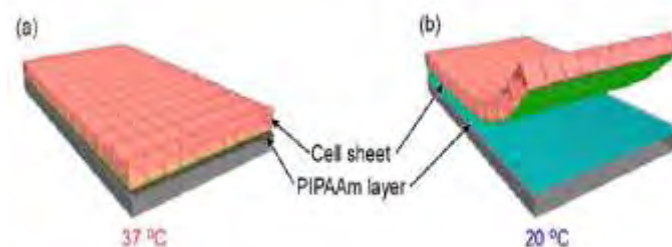
Se está buscando crear lunas para coches que sean autorreparables gracias a este material, de ahí el interés del sector automovilístico citado anteriormente.

2.3 Poli(N-isopropilacrilamida), PIPAAm

La poli(N-isopropilacrilamida), o abreviado PIPAAm, es un polímero inteligente bastante conocido que responde cambiando su hidrofobicidad/hidrofilia en función de la temperatura a la que se encuentre.

A unas temperaturas mayores que 32°C el polímero se vuelve hidrofóbico, y a menores actúa como hidrofílico; siendo las temperaturas óptimas más utilizadas en estudios 37 °C y 20 °C. Este comportamiento se debe principalmente a los cambios conformacionales de las cadenas del polímero dependiente de temperatura, lo cual produce la hidratación de los grupos laterales de isopropilo del compuesto.

El principal campo en el que se usa este polímero es en el conocido como "Cell sheet Engineering", una rama que estudia capas celulares como por ejemplo los cultivos celulares y sus usos. Lo que se hace con este polímero es que se coloca en monómeros en la placa y se tratan con Mg y EB ("electron beam irradiation") para que polimerice. Una vez que se tiene esta placa, se cultivan las células



sobre ella.

Fig. 3. imagen obtenida de Polymers.

Como se observa en la imagen adjunta (Fig. 3), la capa de PIPAAm que se encuentra debajo de la capa de células a 37°C (a) posee carácter hidrofóbico permitiendo que la capa esté unida. Si se disminuye la temperatura a 20°C (b) el agua del medio entra en el polímero por ser ahora hidrofílico, cambia su conformación y hace que la capa de células se despegue y sea más fácil separarla de la placa de cultivo. Además, la temperatura de 37°C es óptima para cultivar células de tejidos humanos, y descendiendo la temperatura sería más fácil arrancar las células de la placa para llevarlas a estudio sin tener que usar otros productos químicos para hacer que dejen de estar adheridas. [5]

Se ha demostrado que grosores de PIPAAm de $15,5 \pm 7,2$ nm permiten el correcto funcionamiento. Por otro lado, grosores mayores impiden este comportamiento hidrofó-

bico/hidrofílico, y por tanto no son eficaces.

Sin embargo, el PIPAAm tiene otras aplicaciones que están estudio, como formar microcápsulas que liberen su contenido dependiendo de la temperatura, o crear micelas de este polímero que lleven un medicamento y guiarlas hasta un lugar concreto y controlar la liberación del fármaco, por medio del control de la temperatura del organismo, o de una zona de este.

2.4. Polímeros que contienen azobenceno.

Este tipo de polímeros pertenecen al grupo de los que son controlados por luz y por calor aunque, sin embargo, los polímeros que contienen azobenceno están siendo incorporados cada vez más a los materiales fotocontrolables y no tanto de los termocontrolables. [6]

Cuando este tipo de polímeros inteligentes reciben luz, cambian sus propiedades porque cambian su alineamiento molecular dirigido por el movimiento del esqueleto principal, quedando de forma perpendicular al haz de luz polarizada que les llegue. Se ha descubierto que este tipo de polímeros pueden cambiar de conformación cis a trans al ser enfocados con luz, lo cual explica ese realineamiento y reorganización de la malla que forme el polímero.

Un caso concreto de estudio sobre este polímero es el elastómero de cristal líquido de azobenceno. Cuando una capa de este material recibe tratamiento con luz se reordena, como se observa en la figura adjunta (Fig. 4). Sin embargo, solo afecta a capas finas (a), es decir, las capas más internas no se verían afectadas, lo cual permite jugar con curvaturas del material dependiendo del ángulo de las moléculas del material, y del ángulo de las distintas radiaciones a las que se vean sometidos (b y c).

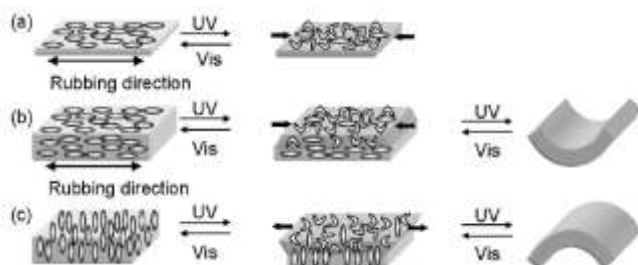


Fig. 4. Obtenida de Polymers.

En los laboratorios en los que se está trabajando con este material se están poniendo sobre la mesa ideas tales como: músculos artificiales, motores plásticos, control de fuentes de energía... en definitiva, están abriendo el campo de los materiales fotodeformables y de la fotomanipulación. [7]

5. CONCLUSIONES

En este artículo sólo se han mostrado 4 ejemplos de polímeros inteligentes y de su funcionabilidad. Sin embargo, se puede apreciar la gran versatilidad de este campo. Sin lugar a dudas, la sociedad futura hará uso de este tipo de materiales, mucho más eficientes y de mayor facilidad para el reciclaje, así como mejorarán y cambiarán nuestro estilo de vida.

Con el avance del mundo de los polímeros inteligentes se harán realidad otros proyectos sorprendentes, como ventanas inteligentes que cambian de color [8], ropa inteligente [9] o incluso un material carbonado que sea capaz de hacer pasar la luz por él, creando así una capa de invisibilidad [10] que parecerá sacada de las novelas de Harry Potter.

REFERENCIAS

- [1] Encarnación Cano Serrano, Marina Urbina Fraile, Noviembre 2008, Informe de Vigilancia tecnológica: Polímeros inteligentes.
- [2] Miguel Ángel Gómez Crespo, Alfonsa Cañamero Lancha Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias 8 (Núm. Extraordinario), 460-465, 2011
- [3] unaventanalconocimiento.blogspot.com.
- [4] en.wikipedia.org/wiki/Polyurethane
- [5] Zhonglan Tang, Yoshikatsu Akiyama and Teruo Okano, *Review Temperature-Responsive Polymer Modified Surface for Cell Sheet Engineering, Polymers* 2012, 4, 1478-1498.
- [6] Koshima, H.; Ojima, N.; Uchimoto, H. Mechanical motion of azobenzene crystals upon photoirradiation. *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 6890-6891.
- [7] Akira Emoto, Emi Uchida and Takashi Fukuda, *Review Optical and Physical Applications of Photocontrollable Materials: Azobenzene-Containing and Liquid Crystalline Polymers, Polymers* 2012, 4, 150-186.
- [8] <http://hypatia.morelos.gob.mx/index.php?option=comcontent&task=view&id=97&Itemid=68>
- [9] Javier Ramón Sanchez Martín, Los tejidos inteligentes y el desarrollo tecnológico de la industria textil, *Técnica industrial* Marzo-Abril 2007, 268, 38-44.
- [10] <http://edition.cnn.com/2013/03/27/tech/invisibility-cloak>

La nicotina como agente terapéutico

Luna Jiménez Castilla

La nicotina es conocida por sus efectos negativos sobre el organismo. No obstante, a pesar de lo que pueda creer la mayoría de la gente, esta sustancia tiene efectos beneficiosos, siempre y cuando esté en su estado puro: mejora la atención, la concentración y la memoria, además de ayudar a combatir ciertas enfermedades.

Palabras Claves— Nicotina, Parkinson, Alzheimer, puro, efectos beneficiosos.

Esta sustancia conocida comúnmente como nicotina, es un compuesto orgánico, más concretamente un alcaloide que se puede encontrar en las plantas del género *Nicotiana*, como en la planta del tabaco (*Nicotiana tabacum*). Conocida mundialmente por la dependencia que genera cuando se consume, unida al resto de sustancias que componen el tabaco es capaz de ocasionar enfermedades pulmonares, cardiovasculares, incluso cáncer.

En términos técnicos, la nicotina está formada por una piridina y un pirrol (Figura 1).

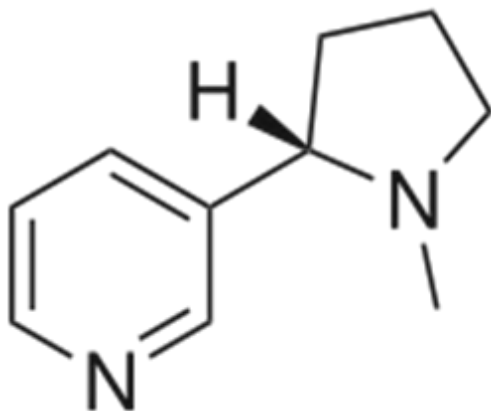


Fig. 1. Estructura molecular de la nicotina.

La L-nicotina, uno de los isómeros de esta sustancia, es la forma activa que se encuentra en el tabaco. Siendo un líquido incoloro, se torna oscuro en presencia de oxígeno, adquiriendo el olor a tabaco al ser expuesto al aire. Su nombre químico es el (S)-3-(1-metilpirrolidin-2-il) piridina, y su fórmula molecular es $C_{10}H_{14}N_2$. Sus propiedades químicas son las siguientes: masa molecular de 162.23 g/mol, densidad de 1.01 g/ml, punto de fusión de $-7.9^{\circ}C$ y punto de ebullición de $247^{\circ}C$. Su estructura molecular esta constituida por diez carbonos, catorce hidrógenos y dos nitrógenos, como se sobreentiende a partir de la fórmula molecular mencionada anteriormente (Figura 2).

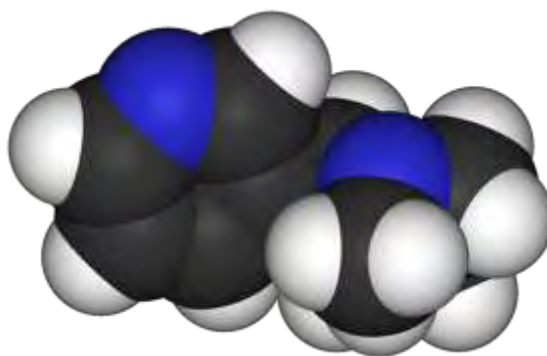


Fig. 2. Estructura molecular de la nicotina en 3D.

La nicotina es un compuesto “polifacético”, desde el momento en que llega al cerebro se libera una gran cantidad de mensajeros químicos. La nicotina puede ser un estimulante al liberar adrenalina y glucosa desde el hígado. Es capaz de mejorar la concentración y la memoria debido al aumento de la acetilcolina. También mejora el estado de alerta debido al aumento de, además de la acetilcolina, la noradrenalina. Aumenta la excitación, por la norepinefrina, y puede llegar a disminuir el dolor por el aumento de la acetilcolina anteriormente mencionada y la betaendorfina, teniendo en cuenta que esta última también produce una disminución de la ansiedad.

Tal y como se anunciaba en el resumen de este artículo, según estudios recientes realizados en distintas universidades y laboratorios, se ha podido constatar que la nicotina, en estado puro, es capaz de producir efectos beneficiosos en el cuerpo humano contrarrestando síntomas de diversas enfermedades neurodegenerativas o incluso llegando a prevenirlas.

Las investigaciones realizadas sobre la nicotina revelan un gran conocimiento sobre cómo actúan las sustancias químicas en el organismo, especialmente en el cerebro (Figura 3). Los receptores de acetilcolina nicotínicos del cerebro juegan un papel importante en la memoria y la cognición; y participan en la patogénesis de varios trastornos cerebrales (enfermedades de Parkinson y de Alzheimer, síndrome de Tourette, la esquizofrenia, la depre-

sión, el trastorno de déficit de atención, etc). En estas enfermedades, diversos estudios clínicos han demostrado que la nicotina, en estado puro, tiene resultados beneficiosos, tanto como agente terapéutico como profiláctico. Esta sustancia se adhiere a los receptores y estimula la actividad celular, liberando una gran cantidad de neurotransmisores, que llevan información de una célula a otra, como la dopamina, la acetilcolina o el glutamato.

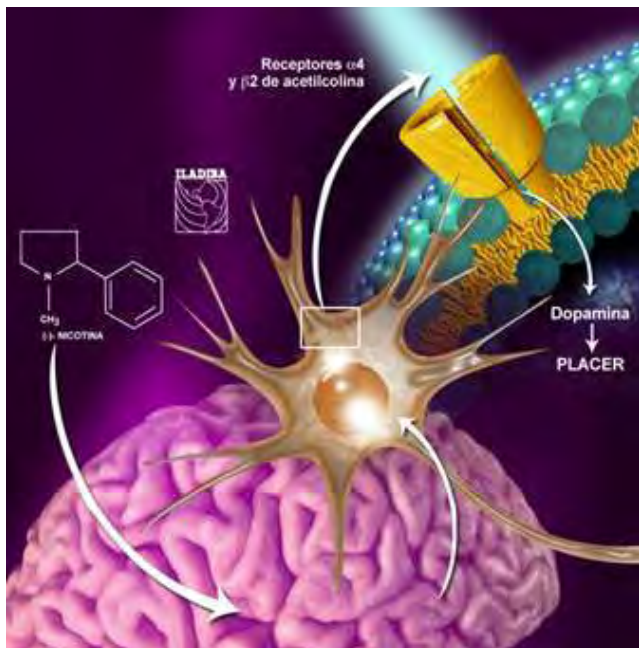


Fig. 3. Esquema de actuación inmediata de la nicotina en el cerebro humano.

Estudios realizados en la Universidad de Vermont (EEUU), han demostrado que la nicotina pura, en parches que lleven pequeñas dosis de esta sustancia, ayuda a mantener la atención y se observa una mejoría en las reacciones de los enfermos de Parkinson, entre otras dolencias cerebrales. La enfermedad del Parkinson, en concreto, está determinada por la muerte de distintas células que fomentan la liberación de dopamina en el cerebro, función que realiza la nicotina, siendo esta la principal causa de los distintos estudios llevados a cabo hasta el momento. Según investigaciones realizadas por el equipo de profesionales médicos del Doctor Gabriel Villafane, del hospital Lionel (París), que corroboran las conclusiones de los anteriores estudios realizados en la Universidad de Vermont, la nicotina es capaz de mejorar la actividad motora de los enfermos de Parkinson. Además, permite la reducción de la dosis de medicamentos para combatir esta enfermedad, por ejemplo de L-dopa, hasta en más de un 50%. La nicotina modifica la producción de ciertas sustancias elaboradas por células del cerebro que tienen un efecto llamado neurotrófico, provocando un resultado a corto plazo en la capacidad de creación de prolongaciones nerviosas y regeneración celular.

La nicotina representará, en un futuro no muy lejano, el mayor eje terapéutico, sobre todo al inicio de la enfer-

medad, incluso antes de aparecer los primeros síntomas en futuros pacientes predispuestos a ella. Así mismo, para el año próximo, se espera la salida al mercado del dispositivo transdérmico de nicotina para el tratamiento de pacientes con Parkinson.

Con respecto al Alzheimer, las investigaciones con grupos de personas con signos tempranos de pérdida de memoria demostraron que la utilización del tratamiento con nicotina produce la recuperación de la memoria a largo plazo en casi un 50%.

Otra vertiente de aplicación de la nicotina es el tratamiento de pacientes que han dejado de ser tabacodependientes. En estos pacientes se observa una disminución en los procesos de atención y memoria. Después de una terapia de reemplazo de nicotina, se ha constatado la mejoría en los aspectos mencionados anteriormente.

Estos aspectos positivos, a pesar de su optimismo, no colocan al alcaloide en buena posición, ya que los males producidos por su asimilación debido a la forma de consumo usual, el tabaco, son mayores a los beneficios. A pesar de los tópicos sobre la nicotina, en los que cree la población en general, sería importante aclarar que estos males se deben a su forma de consumo, ya que el estudio de esta sustancia, en su estado puro, demuestran su utilidad en diversos aspectos y situaciones de la vida cotidiana. Es necesario que se abran nuevas puertas a la investigación de esta sustancia ya que puede ser que estemos ante un importante agente terapéutico que apenas hemos considerado viable hasta ahora.

Referencias:

- [1] <http://www.sedet.es> (Enlace web)
- [2] <http://www.enfermedad-de.org/neurologia/enfermedad-de-parkinson> (Enlace web)
- [3] <http://revista.anacem.cl/web/?p=1096> (Enlace web)
- [4] <http://herenciageneticayenfermedad.blogspot.com/2012/11/d-escubren-interacciones-clave-de.html> (Enlace web)
- [5] <http://www.revneurolog.com/sec/resumen.php?id=2004473> (Enlace web)
- [6] http://hiperactividaducn.tripod.com/thda_archivos/Hiperactividad002_Revneurolog.pdf (Enlace web)
- [7] <http://portal.unidoscontraelparkinson.com/investigacion-parkinson/1099-noticias-a-fondo-la-vacuna-para-el-parkinson.html> (Enlace web)



Luna Jiménez Castilla
1º Grado Biotecnología.

Orígenes del Ácido Fórmico

Cristina Casto-Rebollo

Resumen— El ácido fórmico es el ácido más simple de la naturaleza, y se encuentra presente en numerosos organismos con finalidades diferentes. A lo largo del artículo observaremos algunas particularidades de dicho ácido, como su utilización en la dieta de los lechones y la acción defensiva llevada a cabo en algunos organismos.

Palabras Claves—Ácido fórmico, Producto natural, Defensa, Beneficios, Aplicaciones humanas.

1. INTRODUCCIÓN

EL ácido fórmico es el ácido carboxílico más simple que existe (Figura 1). Fue descubierto por el científico Jonh Ray a partir de la destilación de una determinada cantidad de hormigas rojas (Formica Rufa). De dicho descubrimiento es de donde procede el nombre de este ácido ya que hormiga en latín es "Formica".

El carácter ácido de la molécula le viene dado por el grupo carboxílico (-COOH), cuya acidez se debe a la estabilización de la carga del anión resultante por resonancia. Su pKa es de 3.75, por lo que es un ácido relativamente fuerte para ser un producto natural orgánico.

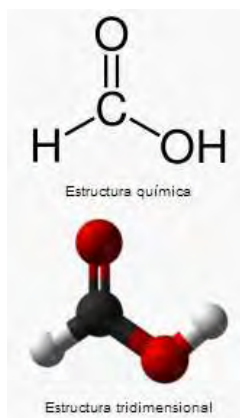


Fig. 1. Estructura molecular del Ácido fórmico.

La reactividad de los ácidos carboxílicos es diversa. Puede reaccionar con bases fuertes, como el NaOH, para dar sales de ácidos denominadas carboxilatos, formiato en el caso del fórmico. También se pueden descarboxilar; $R-COOH \rightarrow R-H + CO_2$, aunque dicha reacción es poco favorable en ausencia de otros grupos funcionales. Además pueden llevar a cabo una reacción de esterificación (bajo catálisis ácida) para la formación de Ésteres (R-COOR').

A pesar de ser el ácido fórmico un producto natural, hoy en día, gracias al avance de las tecnologías, puede sintetizarse cualquier compuesto en el laboratorio como es su caso. Pierre Eugene Marcellin Berthelot desarrolló el proceso de síntesis a partir de NaOH y CO para formar la sal del ácido que posteriormente daría lugar al ácido fórmico al producirse la reacción con H_2SO_4 .

2. ÁCIDO FÓRMICO COMO PRODUCTO NATURAL

Generalmente la palabra ácido no trae connotaciones positivas a lo largo de su historia. Sin embargo, diversos organismos se las han ingeniado para utilizar las características de un ácido en beneficio propio, como son las hormigas, las abejas y las ortigas, entre otros.

Fig.2. Se observa una formica rufa (arriba) y una ortiga donde



se diferencian los pelos urticarios (abajo).

La hormiga (Figura 2) es un animal que, debido a su pequeño tamaño, es fruto de interés por numerosos organismos depredadores. Por ello han desarrollado sustancias que les sirven de defensa, como el ácido fórmico, que es capaz de provocar quemaduras, dolor y enrojecimiento de la piel en sus víctimas, algo muy desagradable. Además, se ayuda de dicho compuesto para marcar el camino por donde viaja y que les sirva de rastro a sus compañeras. Existe una especie de hormiga, la hormiga saltadora (*Myrmecia pilosula*) que posee en su organismo ácido cianhídrico, letal para algunos organismos y muy doloroso para nosotros.

La ortiga (Figura 2) posee unas protuberancias en forma de pelos afilados llamados pelos urticarios. Estos pelos están formados por numerosas células calcificadas que ayudan a formar una estructura rígida favorable para la penetración en la piel de algunos animales. Cuando se produce el contacto del individuo con la ortiga se produce la rotura del ápice de los pelos urticarios provocando la rotura de la vacuola que contiene una concentración determinada de ácido fórmico, insertándose éste en el indi-

viduo y provocando urticaria.

Las abejas en cambio, poseen ácido fórmico para la conservación de la miel, no para su defensa. Éste ácido sirve como una defensa indirecta contra ciertos ácaros del género *Tropilaelaps* y la *Varroa* que las suelen colonizar. Este tipo de ácaros se alimentan de los fluidos corporales de los adultos, pupas y larvas de las abejas. Normalmente en los cultivos apícolas se suele aplicar una leve concentración de éste ácido para prevenir dichas plagas, aunque su exceso puede provocar un olor y un gusto desagradable en la miel.

3. APLICACIONES PARA LOS HUMANOS

El ser humano, al igual que con infinidad de productos naturales, se las ingenia para conseguir, a partir de unas características químicas y físicas, productos adaptados a los criterios que ellos desean. El ejemplo más claro es la manipulación de esteroisómeros para la formación de fármacos óptimos.

Una de las aplicaciones que el ser humano le ha asignado al ácido fórmico es su administración en pequeñas dosis a los pequeños lechones. Los lechones en sus primeras semanas de vida manifiestan ciertos síntomas gastrointestinales ligados a una baja ganancia de peso. La causa es el desarrollo incompleto del aparato digestivo debido a que no sintetizan correctamente ciertos componentes como el HCl, la tripsina y la amilasa, entre otros compuestos que les ayudan a mantener un pH ácido y digerir correctamente los alimentos.

El interés del ser humano en cuanto a la cría de lechones es ganar tiempo con respecto al aumento de peso de los lechones para así poder vender antes su carne y conseguir beneficios en sus empresas. Por ello se usa algunas clases de ácidos orgánicos (Figura 3), como el ácido fórmico, en piensos de cebo de cerdos para aumentar la acidez de su estómago. Esto permite aumentar la proteólisis gástrica así como reducir el crecimiento bacteriano intestinal y sus metabolitos, potenciando el crecimiento de los cerdos.

Ácido	% ¹	BW ²	DWG ³	%Δ ⁴	FCR ⁵	Δ%*	Referencia
Fórmico	0,6	6,1	463	+21,8*	1,46*	-5,6	Eckel et al., 1992
	1,2	6,1	468	+22,1*	1,43*	-7,5	
	1,8	6,1	401	+4,6	1,53	-1,0	
	2,4	6,1	325	-15,1*	1,60	+3,9	
Acético	0,9	5,6	415	-2,1	1,77	+1,1	Roth y Kirchgeßner, 1988
	1,8	5,6	429	+1,2	1,72	-1,7	
	2,7	5,6	441	+4,0	1,70	-2,9	
Propiónico	1,0	5,6	388	-3,2	1,78	+1,1	Kirchgeßner y Roth, 1982b
	2,0	5,6	385	-4,0	1,80	+2,2	
	3,0	5,6	395	-1,5	1,74	-1,1	
Láctico	0,8	6,8	489	+4,7	1,65	+1,2	Roth et al., 1993
	1,6	6,8	505	+8,1	1,60	-1,8	
	2,4	6,8	501	+7,3	1,60	-1,8	
Sorbico	1,2	7,2	490	+13,7*	1,63*	-4,1	Kirchgeßner et al., 1995
	1,8	7,2	523	+21,3*	1,60*	-5,9	
	2,4	7,2	546	+26,7*	1,59*	-6,5	

Fig. 3 ¹Nivel de inclusión de ácido en la dieta. ²Peso inicial, kg. ³Ganancia diaria de peso, g. ⁴Porcentaje de aumento/disminución sobre el control. ⁵Índice de conversión (g/g). *Porcentaje de mejora/reducción del FCR con respecto al control. *Diferencia significativa (P < 0,05) respecto al control.

mo conservante, debido a su acción antimicrobiana. El ácido fórmico es un compuesto orgánico que posee la característica, al igual que otros, de difundirse a través de las membranas celulares de los microorganismos. Esta característica les permite viajar hasta el citoplasma disociándose posteriormente en él y provocando una variación del pH intracelular del microorganismo. La consecuencia de esto es la inactivación de numerosas vías del metabolismo del microorganismo debido a la supresión de numerosas vías enzimáticas. Las enzimas sólo son capaces de trabajar a un pH determinado, a un pH óptimo, si ese pH variase rangote forma significativa la ruta metabólica se vería afectada. Aún así, si el pH varía mucho en el interior celular puede ocasionar la desnaturalización de la mayoría de las proteínas. Ambas cosas ocasionan la muerte del microorganismo. Cuanto más alto sea el pKa de los ácido orgánicos mayor será su acción conservante, debido a que se disociará en una proporción mayor. El ácido fórmico, como mencionamos antes, posee un pKa de 3,75

4. CONCLUSIÓN

El ser humano es capaz de sintetizar productos naturales en el laboratorio para beneficio propio, como es el caso del ácido fórmico, que es el ácido carboxílico más simple, pero no por ello el menos importante. Puede desarrollar numerosas funciones, como hemos ido viendo durante el artículo, gracias a determinadas características: su elevada solubilidad y su relevante acidez. No obstante al igual que las ventajas que posee utilizar el ácido fórmico, hay que tener cuidado durante su utilización porque aunque no sea uno de los ácidos más fuertes, sigue siendo un ácido.

REFERENCIAS

- [1] R.Gerritsen, A.J. Van Dijk, K.Rethy and P. Bikker, "The effect of blends of organic acids on apparent faecal digestibility in piglets", *Livestock Science*, Volume 134, Issue 1, Pages 246-248, September 2010.
- [2] XVI Curso de especialización FEDNA, "Ácidos orgánicos en nutrición porcina: Eficacia y modo de acción", http://www.salnvet.com/img/productos/documentos_35%C3%81cidos%20org%C3%A1nicos%20en%20nutrici%C3%B3n%20porcina.pdf (Página Web PDF)
- [3] http://apisenterprises.com/apicultura_chilena/1156.htm (Página Web)
- [4] Wikipedia: http://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_f%C3%B3rmico (Página Web)
- [5] <http://www.botanical-online.com/lesortigues11castella.htm> (Página Web)



Cristina Casto Rebollo estudiante de primer curso del Grado en Biotecnología de la Universidad Pablo de Olavide. Realizó estudios anteriores en la provincia de Huelva. Ahora reside en Sevilla hasta la finalización de la carrera.

El ácido fórmico es usado también profusamente co-

La castración química: polémica solución

Almudena Sánchez García

Resumen— Existen diferentes tratamientos farmacológicos para evitar la reincidencia de los delincuentes sexuales, siendo los más comúnmente utilizados los antagonistas hormonales, como la medroxiprogesterona, o los antiandrógenos como el acetato de ciproterona, que actúan contra la testosterona. Estos medicamentos tienen ventajas e inconvenientes que, en combinación con la ineficacia en ciertos casos, hacen que no sean aceptados totalmente.

Palabras Claves— Castración química, Testosterona, Medroxiprogesterona, Hormona luteinizante, ISRS.

1. INTRODUCCIÓN

En 1990 surgió en varios estados del mundo la consideración de castigar la pederastia o los delitos sexuales con la castración, tanto química como quirúrgica. La posibilidad de un tratamiento para delincuentes reincidentes es una realidad en cada vez más países, aunque existen evidencias de la ineficacia de la castración química, si el trastorno es de origen genético o social, la combinación de una terapia psicológica con fármacos da resultados. Si bien el término suena agresivo, es un procedimiento que no provoca daños, es reversible y beneficioso para quien lo requiera, y en combinación con terapia psicológica puede resultar en una disminución de la reincidencia, del 50% habitual en este tipo de trastorno, a un 2-5 %.

El control de la libido mediante fármacos consiste en la reducción de la testosterona (Figura 2), principal hormona sexual de los hombres, mediante tres vías principales: uso de antagonistas o agonistas hormonales y antiandrógenos.

2. MEDICAMENTOS

2.1. Medroxiprogesterona

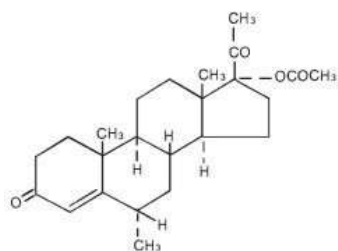
La medroxiprogesterona (Figura 1) es un progestágeno sintético muy potente, que se utiliza en diferentes tratamientos en enfermedades respiratorias, amenorrea, el síndrome de Pickwick, anticonceptivo, en mujeres menopáusicas, etc.

Si bien el mecanismo exacto es desconocido, la medroxiprogesterona suprime el ciclo de acción de la hormona luteínica (LH), hormona que regula la cantidad de células de Leydig y, por tanto, la cantidad de testosterona, ya que es el lugar principal de la síntesis de esta hormona. Cuando la medroxiprogesterona se fija a sus receptores se reduce la frecuencia de la salida de la hormona liberadora de gonadotropina del hipotálamo, que interfiere con la LH.

Se puede suministrar por vía oral o por inyección intramuscular, pero en el caso del tratamiento para la castración suele ser en forma de inyección trimestral, eliminándose sus efectos en un periodo de 120-200 días aproximadamente. La inyección puede producir una decoloración de la piel en la zona, y se han descrito casos de fatiga, aumento de peso, sofocos, cefaleas, náuseas, hipertensión, trombosis retinal, embolia pulmonar, etc. No se

recomienda el uso de este fármaco en hombres con problemas de insuficiencia renal, por el agravamiento de los síntomas. La impotencia se produce cuando los niveles de testosterona descienden un 25% de los niveles basales, además, este medicamento, que se comercializa por la compañía Pfizer bajo la marca Depo- Provera, puede ser usado como tratamiento para algunos cánceres, ya que se ha demostrado que los delincuentes tratados con este fármaco tienen menos tendencia a desarrollar cáncer de próstata.

La medroxiprogesterona puede resultar ineficaz por las interacciones que tiene con otras moléculas en nuestro organismo, como la aminoglútetimida, fenobarbital, carbamazepina, primidona, etc.



medroxyprogesterone acetate

Fig. 1. Medroxiprogesterona.

2.2. Acetato de ciproterona y LHRH

El acetato de ciproterona es un derivado de la progesterona que posee actividad antagonista al receptor de los andrógenos, inhibiendo su unión. De esta manera se limita la síntesis de testosterona en el testículo, disminuyendo los niveles en sangre. Además de como tratamiento para la reducción del impulso sexual, se utiliza también como medicamento en el carcinoma de próstata, en la alopecia androgénica, para la sustitución hormonal en cambios de sexo de varón a mujer, en la menopausia o en hirsutismo muy intenso en mujeres. En el caso de la castración se pueden administrar dosis de 50

a 200 mg al día por vía oral. Entre los efectos adversos se encuentra el aumento de peso, malestar, pesadillas, dolores de cabeza, calambres musculares, dispepsia, cálculos biliares o diabetes.

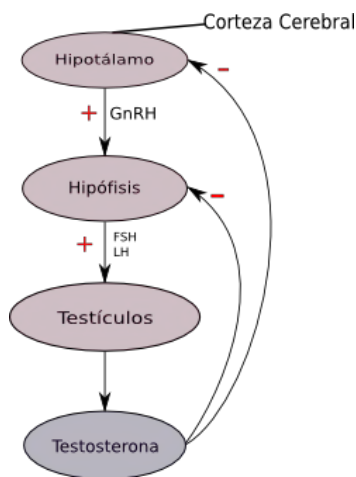


Fig. 2. Ciclo de la testosterona.

El LHRH es un decapeptido que se sintetiza en el hipotálamo y se secreta directamente al torrente sanguíneo de manera pulsátil, estimulando la liberación de las hormonas FSH y LH de la pituitaria. Como vemos en la Figura 2, y como dijimos anteriormente en el caso de la hormona luteinizante, si éstas se inhiben, la producción de testosterona disminuye. Los agonistas de la LHRH sintéticos, como la leuprolida o la nafarelina, tienen una potencia mayor con respecto a la LHRH nativa. Este tratamiento es similar al de la medroxiprogesterona, se suministran entre 300 y 600 mg cada 3 meses aproximadamente. Este fármaco fue desarrollado como tratamiento para el cáncer de próstata avanzado en un primer lugar. Los efectos secundarios son muy parecidos a los que ya hemos visto en el acetato de ciproterona.

2.3. Serotonina

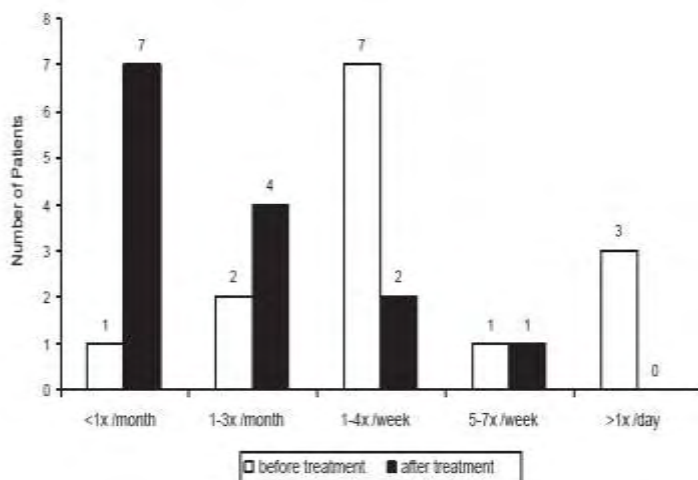
El serotonina inhibe la excitación sexual y la eyaculación, aunque los efectos varían de acuerdo con diferentes receptores de serotonina, por ejemplo, la activación de los receptores 5-HT_{1A} acelera da eyaculación, al contrario que los 5-HT_{2C}. Los posibles mecanismos de los ISRS ("inhibidores de la recaptación de serotonina") en parafilias son:

- Inhibición general de la actividad sexual.
- Reducción de la impulsividad.
- Reducción del trastorno obsesivo-compulsivo.
- Reducción de los síntomas depresivos subyacentes.
- Reducción indirecta de los niveles de testosterona debido a la nefazodona, un inhibidor de la recaptación de serotonina.

Hoy en día, los tratamientos que regulan los niveles de serotonina se utiliza a menudo como medicación estándar para estas afecciones, y ya desde 1990 los ISRS también se

usan en el tratamiento de las parafilias y la impulsividad sexual, para reducir las fantasías sexuales, el deseo y la masturbación.

Las primeras mejoras de los síntomas suelen verse después de 2 a 4 semanas de tratamiento. La dosis debe ajustarse a cada paciente y, en pocas ocasiones, es necesario elevarla más de la utilizada en los pacientes con trastornos obsesivo-compulsivos. Como vemos en la Figura 3, los resultados de la serotonina se ven incrementados a mayor regularidad de la dosis, y se observa un increíble incremento de los pacientes que no realizan la masturba-



ción con fantasías sexuales.

Fig. 3. Experimento: antes y después en pacientes tratados con ISRS.

Los efectos secundarios son inquietud, ansiedad, disminución del sueño, náuseas, disminución del apetito, daño hepatocelular, etc.

3. CONCLUSIÓN

Actualmente, la ética y la moral están lo suficientemente avanzadas como para que la posibilidad de la castración quirúrgica reducida se contemple. Los avances en la ciencia y la medicina nos permiten encontrar soluciones menos drásticas a las conductas problemáticas de la sociedad. Muchos piensan que estos tratamientos no son adecuados, y los efectos secundarios son mayores que el efecto positivo global. En los últimos años la castración química ha ido extendiéndose por numerosos países y, en combinación con terapia psicológica, utilizada como remedio para ciertos casos parafilias penadas por ley. El término castración es fuerte, pero se llama castración porque, aunque sea de manera química, se impide de una forma u otra, el acto sexual de la persona en cuestión. La ciencia sigue avanzando día a día, y las técnicas y tratamientos con ella, algún día se encontrará la solución a este gran problema de la sociedad, y muchas personas podrán resultar salvadas por ello. Porque a veces las aplicaciones de la ciencia pueden resultar tan decisivas y trascendentales como salvar a alguien de un futuro de miedo

y pesadillas.

REFERENCIAS

- [1] Web de Soluciones de Seguridad Global. <http://www.belt.es>
- [2] Web Xataka Ciencia. <http://www.xatakaciencia.com>
- [3] Web del Instituto Químico Biológico. <http://www.iqb.es/>.
- [4] Web de Toxicology Data Network. <http://toxnet.nlm.nih.gov/>.
- [5] Andreas Hill, Peer Briken, Christian Kraus, Kerstin Strohm and Wolfgang Berner, "Differential Pharmacological Treatment of Paraphilias and Sex Offenders", *Int J Offender Ther Comp Criminol* 2003 47: 407 DOI: 10.1177/0306624X03253847.
- [6] Richard B. Krueger, Wylie Hembree and Michael Hill, "Prescription of Medroxyprogesterone Acetate to a Patient with Pedophilia, Resulting in Cushing's Syndrome and Adrenal Insufficiency", *Sex Abuse* 2006 18: 227 DOI: 10.1177/107906320601800208.
- [7] Garcia FD, Delavenne HG, Assumpção Ade F, Thibaut F, "Pharmacologic treatment of sex offenders with paraphilic disorder", *Curr Psychiatry Rep*. 2013 May;15(5):356. doi: 10.1007/s11920-013-0356-5.
- [8] Sharon Cameron, "Subcutaneous depot medroxyprogesterone acetate", *J Fam Plann Reproductive Health Care* 2013; 39:75-77 doi: 10.1136/jfprhc-2012-100517.
Frederico Duarte Garcia, Heloise Garcia Delavenne, Alessandra de Fátima Almeida Assumpção, Florence Thibaut, "Pharmacologic Treatment of Sex Offenders With Paraphilic Disorder", *Curr Psychiatry Rep* 2013 15: 356 doi: 10.1007/s11920-013-0356-5.
- [9] Joo Yong Lee and Kang Su Cho, "Chemical Castration for Sexual Offenders: Physicians", *Journal of Korean Medical Science*, <http://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.3346/jkms.2013.28.2.171>. 2013



Almudena Sánchez García estudiante de 1º de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

El levonorgestrel

Irene García Roldán

Resumen— El levonorgestrel (LNG) es el principal componente de lo que conocemos hoy en día como píldora del día después. El LNG actúa alterando el ciclo menstrual para evitar de este modo el embarazo en la mujer. Se sabe que puede actuar como un anti-estrógeno, potenciar el efecto natural de la progesterona o alterar el moco cervical para evitar la llegada de espermatozoides a la trompa de Falopio, entre otras cosas. Sin embargo, no se conoce a ciencia cierta si puede impedir la implantación del óvulo una vez fecundado, es decir, no sabemos si esta píldora de emergencia es una píldora solamente anticonceptiva o si también es abortiva. El LNG también tiene otros usos, aunque menos conocidos, como pueden ser el tratamiento de endometriosis o la disminución de histerectomías.

Palabras Claves— Hormona luteinizante, Levonorgestrel, Ovulación, Píldora, Progesterona

1. QUÍMICA DEL LEVONORGESTREL

El levonorgestrel (LNG) es una progestina de origen sintético derivada de la 19-nortestosterona. La 19-nortestosterona deriva a su vez de la hormona masculina testosterona; esto hace que tenga una acción dual: por un lado es similar a la hormona femenina progesterona y por otro lado, tiene efectos masculinizantes que antagonizan la acción de las hormonas femeninas. Químicamente, el levonorgestrel (figura 1) es el enantiómero levorrotatorio de la mezcla racémica norgestrel, hormonalmente activo.

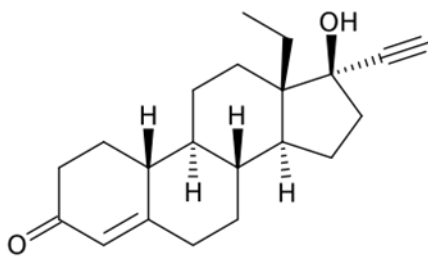


Figura 1. Levonorgestrel

2. HISTORIA DE LOS ANTICONCEPTIVOS DE EMERGENCIA

La anticoncepción de emergencia se inició en los años 60 como método para evitar embarazos y abortos después de una violación. En primer lugar, se empezaron a usar altas dosis de un estrógeno. Después, el estrógeno fue reemplazado por lo que se conoce como régimen de Yuzpe. El régimen de Yuzpe contiene dos anticonceptivos: el etinilestradiol y el levonorgestrel. Sin embargo, posteriormente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) realizó un estudio en el cual se comparaba el régimen de Yuzpe con el levonorgestrel y, los resultados obtenidos revelaron que el levonorgestrel solo podía ser utilizado como anti-

conceptivo de emergencia. La anticoncepción de emergencia está aprobada por la OMS, la Federación Internacional de Planificación de la Familia (IPPF) y las agencias reguladoras de la mayoría de los países, incluyendo los EEUU (Food and Drug Administration). En la mayoría de los países, también se incluye la anticoncepción de emergencia en las normas para la atención de los casos de violación. La anticoncepción de emergencia ha sido conocida también como anticoncepción postcoital y a las pastillas utilizadas se las ha llamado la píldora del día después. Estos términos pueden dar lugar a confusión ya que puede usarse varios días después de un coito no protegido y, además, no se trata de una sola píldora.

3. PROCESO DE OVULACIÓN

La ovulación normal es el proceso mediante el cual el ovario libera un óvulo fecundable. Para que esto ocurra, la hipófisis produce una señal con forma de pico hormonal (pico de LH) que al actuar sobre el ovario produce, al menos, cuatro efectos:

- Libera al óvulo de su encierro en las células de la pared folicular y, de esa manera, el óvulo y las células que lo rodean quedan suspendidos en el fluido folicular.
- Desencadena una cascada de eventos químicos y celulares que terminan por romper la pared folicular, permitiendo la liberación del óvulo. Este evento tiene lugar entre 24 y 48 horas después del pico de hormona luteinizante (LH).
- Provoca cambios en las células foliculares, las que disminuyen su producción de estrógeno e inician la producción de progesterona que induce modificaciones en el cuello uterino, impidiendo la entrada de nuevos espermatozoides, y completa la maduración del endometrio preparándolo para la implantación embrionaria.
- Induce cambios somáticos y cromosómicos en el óvulo que son necesarios para que, al encontrarse con los espermatozoides, éstos puedan penetrarlo e iniciar la fecundación. Si los óvulos no se exponen al pico de LH y a los cambios hormonales desencadenados posteriormente, no serán fecundables o la fecundación será defectuosa.

4. MECANISMO DE ACCIÓN DEL LEVONORGESTREL

Dependiendo de la fase del ciclo menstrual en la que se encuentre la mujer, el levonorgestrel actuará de una forma u otra (Figura 2):

4.1. Antes de la ovulación

Si se administra LNG antes de la ovulación, al igual que la progesterona natural, actúa como un anti-estrógeno en el nivel periférico (inhibe las glándulas del endometrio y las glándulas del cuello uterino) y, en el nivel central, inhibe las descargas hormonales de la hipófisis.

4.2. Después de la ovulación

Sin embargo, si se administra después de la ovulación, debido a su gran afinidad con las glándulas endometriales, potencia el efecto de la progesterona natural. La progesterona es una hormona sexual que actúa fundamentalmente durante la segunda parte del ciclo menstrual: para los cambios endometriales que inducen los estrógenos, estimula los cambios madurativos y se encarga de mantener sujeto al endometrio en el útero.

4.3. Durante la ovulación

Si el levonorgestrel se administra durante la fase de reclutamiento folicular ocurren dos cosas: se retrasa la fase de reclutamiento folicular, retrasando proporcionalmente el momento de la ovulación o impidiendo que ésta ocurra y el folículo se reabsorbe en un proceso llamado atresia folicular. Esto puede ocasionar un pequeño sangrado que es el reflejo de que el endometrio perdió sustento hormonal. Si el LNG se administra en la fase de maduración folicular, cercana a la ovulación, el efecto progestativo del LNG puede inhibir el crecimiento y maduración folicular, con lo que habitualmente se desencadena una atresia folicular. A diferencia del período anterior, lo habitual es que la ovulación se inhiba o que pueda retrasarse. También puede ocurrir un pequeño sangrado uterino semejante a una menstruación. El LNG administrado en la fase folicular tardía tiene la capacidad de interferir con el proceso de ovulación, ya sea suprimiendo el pico de LH, la ruptura folicular o la luteinización. Por ser el LNG una progestina, su administración en la fase folicular altera, además, el moco cervical impidiendo, retrasando o dificultando la migración de los espermatozoides. Aquellos espermatozoides procedentes de un coito previo que ya estaban a la espera del óvulo en el cuello uterino o en la trompa de Falopio, se encuentran con la alteración de los fluidos de estos órganos, producida por el LNG, lo que dificulta o impide su migración, y por consiguiente el encuentro con el óvulo y la fecundación.

Los efectos del LNG sobre la ovulación parecen depender de la anticipación con que se administra y los tiempos relativos al inicio del pico de LH.



Figura 2. Mecanismo de acción del levonorgestrel

5. EFECTOS SECUNDARIOS

La ingesta de este fármaco conlleva una serie de efectos secundarios tales como: náuseas, vómitos, mareos, hipersensibilidad de las mamas, aumento de peso, nerviosismo, dolor de estómago, desmayos, cansancio y debilidad, cambios menstruales, pérdida del deseo sexual, depresión, dolor de cabeza y diarrea.

6. ¿PÍLDORA ABORTIVA O PÍLDORA ANTICONCEPTIVA?

El recurrir a la contracepción de emergencia ha sido condenado por la Academia Pontificia para la Vida y por las conferencias episcopales de numerosos países, basado en el hecho de su acción anti-nidatoria, que atenta contra la vida del embrión. No se puede afirmar que la píldora de emergencia sea anticonceptiva, pero tampoco abortiva, ya que se trata de un procedimiento químico que se encuentra en el límite del origen de la vida y puede actuar tanto antes de la fecundación como después. Si la píldora es tomada días previos a la ovulación impediría este proceso y actuaría como una píldora anticonceptiva; sin embargo, si es tomada después de la fecundación, podría impedir la implantación del óvulo en el útero (este hecho no está demostrado aún) y entonces, podría ser una píldora abortiva.

Actualmente, se necesitan más investigaciones para poder determinar con certeza los mecanismos responsables de la fecundación, implantación y de la regulación del cuerpo lúteo y cómo interfiere el levonorgestrel en estos. Por ejemplo, aún no se conocen los cambios estructurales que ocurren en el endometrio para la implantación, y si estos son afectados por el levonorgestrel. Tampoco se sabe si el levonorgestrel impide la reacción acrosómica (en la cual la progesterona juega un rol importante).

7. OTROS USOS DEL LEVONORGESTREL

El levonorgestrel, además de ser utilizado como anticonceptivo de emergencia, puede ser utilizado para otros fines. Según un estudio realizado, la ingesta de levonorgestrel por mujeres perimenopáusicas con fibromas uterinos puede reducir el número de histerectomías realizadas a éstas. Otro estudio reveló que el uso de levonorgestrel por adolescentes con endometriosis disminuye en su mayoría, el dolor provocado por esta patología.

8. CONCLUSIONES

El levonorgestrel es el componente principal de la píldora de emergencia. Durante los últimos años esta píldora ha sido utilizada por un gran número de adolescentes movidas, sobre todo, por el miedo al embarazo. Sin embargo, tal y como se ha descrito en este artículo, sus mecanismos de acción todavía siguen en estudio ya que no se conoce si puede interferir en la implantación del óvulo en el útero. Además, podría tener efectos secundarios a largo plazo aún no conocidos.

REFERENCIAS

- [1] <http://es.wikipedia.org/wiki/Levonorgestrel>
- [2] <http://www.buenastareas.com/ensayos/Anticonceptivos-De-Emergencia-Levonorgestrel/4411850.html>
- [3] <http://es.scribd.com/doc/6302473/Zegers-Hochschild-Fernando-MECANISMO-DE-ACCION-DEL-LEVONORGESTREL>
- [4] Horacio Croxatto A.1, María Elena Ortiz S. *Mecanismo de acción del levonorgestrel en la anticoncepción de emergencia*. Rev Chil Obstet Ginecol 2004; 69(2): 157-162.
- [5] <http://escuela.med.puc.cl/publ/arsmedica/arsmedica6/art05.html>
- [6] MacHado, R.B., De Souza, I.M., Beltrame, A., Bernardes, C.R., Morimoto, M.S., Santana, N. *The levonorgestrel-releasing intrauterine system: Its effect on the number of hysterectomies performed in perimenopausal women with uterine fibroids*. 2013. Gynecological Endocrinology 29 (5), pp. 492-495
- [7] Yoost, J., LaJoie, A.S., Hertweck, P., Loveless, M. *Use of the Levonorgestrel Intrauterine System in Adolescents with Endometriosis*. 2013. Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology 26 (2), pp. 120-124



Irene García Roldán
Estudiante de 1º de Biotecnología

Los alcanos en nuestra vida

María Manuela Romero Cisneros

Resumen— ¿Cómo es posible que compuestos orgánicos tan sencillos como los alcanos se hayan convertido en la fuente principal de energía de nuestra sociedad?

Palabras Claves— Petróleo, Gas Natural, Alcano, Craqueado, Energía.

1. INTRODUCCIÓN

En la naturaleza, los compuestos orgánicos más simples que existen, ya que carecen de grupos funcionales y están formados únicamente por carbonos e hidrógenos, son hidrocarburos a los que se conoce bajo el nombre de Alcanos.

Los alcanos entrarían dentro del grupo de los hidrocarburos saturados, es decir, solo se establecen enlaces simples entre sus átomos y, como consecuencia, presentan hibridación sp^3 , responsable de muchas de sus características y sus propiedades físicas y químicas.

Hoy en día se les puede considerar como la fuente de energía más importante para la sociedad, dadas sus interacciones intermoleculares y sus propiedades características, como la insolubilidad en agua o sus puntos de ebullición.

Conociendo la baja polaridad de los alcanos, podemos entender que solamente sean solubles en compuestos apolares; los alcanos son miscibles entre sí, pero insolubles en moléculas polares como el agua. El porqué reside en la incapacidad que tienen los compuestos orgánicos de romper los enlaces de hidrógenos presentes en las moléculas de agua, ya que la energía que estos contienen es incomparable con la presente entre los átomos de carbono e hidrógeno.

Los puntos de ebullición no destacan por ser elevados, es más, son menores que la mayoría de los compuestos orgánicos del mismo peso molecular. Hecho que reside en la debilidad de las fuerzas con las que permanecen unidas, fuerzas de van der Waals, por lo que se requiere poca energía para romper sus interacciones intermoleculares. Sin embargo, dichos puntos aumentan a medida que lo hace la longitud de la cadena, y disminuyen cuando las cadenas se vuelven más ramificadas.

Su poca reactividad química a temperatura ambiente dio origen al nombre de parafinas, lo que explica que no son atacados por ácidos o bases fuertes, ni por agentes oxidantes o reductores.

Las reacciones más importantes que se dan en los alcanos son: la pirolisis (permite la formación de nuevos alcanos con un mayor número de carbonos), la combustión (obtenemos agua y dióxido de carbono) y la halogenación. El proceso de síntesis se realiza por la hidrogenación de los alquenos, pero se obtienen, principalmente, a partir de fuentes naturales (gas natural y petróleo las más importantes) y por métodos sintéticos.

Los alcanos se pueden obtener a escala industrial en el

proceso de destilación fraccionada del petróleo y del gas natural (Fig. 1).

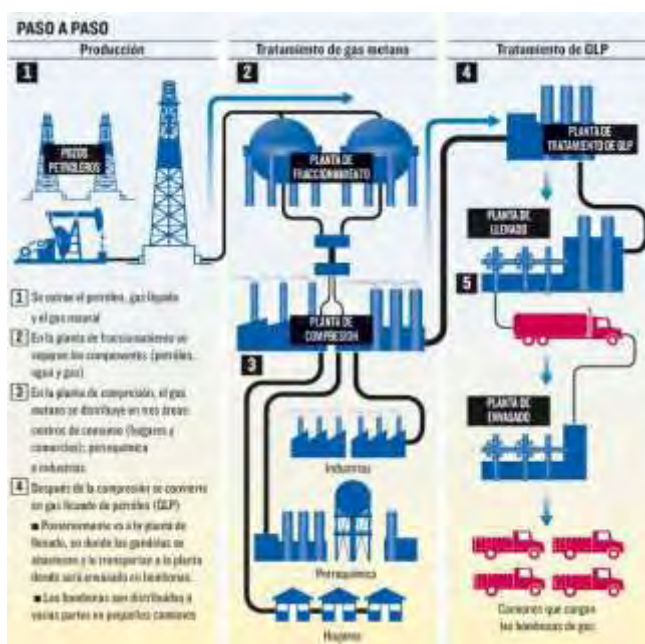


Fig. 1. Proceso de obtención del Petróleo y el Gas Natural paso a paso.

2. EL PETRÓLEO

El petróleo, recurso natural no renovable, se define como la mezcla de alcanos líquidos y otros hidrocarburos, que se formaron cuando los animales marinos y plantas (zooplacton y fitoplacton) muertos y hundidos en el fondo de los antiguos mares, fueron cubiertos con sedimentos por varios millones de años a altas temperaturas y presión hasta su forma actual.

Es considerado el combustible fósil más importante. Su nombre proviene del latín, y literalmente significa aceite de piedra (*petra* piedra, *óleum* aceite). Se saca a la superficie mediante perforaciones y bombeo. Pero su utilidad aumenta cuando es refinado. La destilación, primera etapa del proceso, consiste en calentar el petróleo crudo, líquido negro viscoso que se colecta a grandes profundidades donde hay rocas sedimentarias, a 400°C aproximadamente, de forma que los gases asciendan por una co-

lumna fraccionada. Como cabe esperar, aquellas fracciones que tienen los puntos de ebullición más bajos ascienden más rápido que aquellas cuyos puntos son más elevados. El petróleo se separa, por tanto, en distintas fracciones (Tabla 1).

TABLA 1
FRACCIONES DEL PETRÓLEO

Fracción	Intervalo de Hidrocarburos típicos	Intervalo aproximado de puntos de ebullición (°C)	Usos típicos
Gas	CH ₄ a C ₄ H ₁₀	Menos de 40	Combustibles, materias primas para plásticos
Gasolina	C ₅ H ₁₂ a C ₁₀ H ₂₂	40-200	Combustibles disolventes
Queroseno	C ₁₁ H ₂₄ a C ₁₆ H ₃₄	175-275	Combustible diesel, combustible para motores a reacción, calefacción doméstica, pirólisis para obtener gasolina
Petróleo para calefacción	C ₁₅ H ₃₂ a C ₁₈ H ₃₈	250-400	Calefacción industrial, pirólisis para obtener gasolina
Aceite lubricante	C ₁₇ H ₃₆ en adelante	Sobre 300	Lubricantes
Residuo	C ₂₀ H ₄₂ en adelante	Sobre 350 (cierta descomposición)	Parafina, asfalto

La fracción que forma la gasolina se emplea como combustible, como materia prima para la industria petroquímica, para la industria que suministra fibras sintéticas y para otros materiales útiles.

Las fracciones de altos puntos de ebullición son sometidas a un craqueo por medio de calor y de catalizadores, de forma que se obtienen cadenas carbonatadas más cortas y con unos puntos de ebullición más bajos. En este proceso, y para mantener el número de átomos de hidrógeno, como resultado obtendremos un alcano y un alqueno (presenta dobles enlaces). Esto favorece a la obtención de gasolina a partir del petróleo.

Por otra parte, de este craqueo se obtienen hidrocarburos gaseosos inferiores, entre los que cabe destacar el eteno que se utiliza como materia prima en la industria petroquímica. Estas moléculas sufren distintas reacciones como la alquilación, combinación de un alqueno con un alcano para formar un alcano con un punto de ebullición mayor. Hoy en día este método es utilizado para obtener gasolinas con alto octanaje.

El índice de octano en las gasolinas es de suma importancia, ya que ciertos porcentajes son nocivos para el medio ambiente. Los hidrocarburos con estructuras ramificadas se queman suavemente en un motor, y elevan los pistones suavemente. Aquellos con cadenas carbonadas no ramificadas tienden a explotar en el cilindro y elevan los pistones violentamente. El índice varía mediante las adiciones de tetraetilplomo, procesos de isomerización o mediante la presencia de catalizadores como el platino, que deshidrogena los alcanos para formar cicloalcanos e hidrocarburos aromáticos.

A grandes rasgos, este combustible fósil forma una parte muy importante de nuestra vida cotidiana, y se emplea en los siguientes campos: industria, alimentación, textil, limpieza, agricultura, medicina, combustible, construcción, muebles y papel. Los ejemplos concretos son infinitos, pero entre ellos cabe destacar: en los plásticos, en los aceites y lubricantes, en los cables de comunicación y en la fibra óptica, en carreteras, pavimentos, cementos, hormi-

gón y pinturas, en el tratamiento de los libros y cartones, bolígrafos, chalecos salvavidas, nailon, suela de los zapatos, automóviles, gafas, pomadas...

3. EL GAS NATURAL

TABLA 2
COMPOSICIÓN DEL GAS NATURAL

Componente	Nomenclatura	Composición (%)	Estado Natural
Metano	CH ₄	85,08	Gas
Etano	C ₂ H ₆	2,14	Gas
Propano	C ₃ H ₈	0,29	Gas licuable (GLP)
Butano	C ₄ H ₁₀	0,11	Gas licuable (GLP)
Pentano	C ₅ H ₁₂	0,04	líquido
Hexano	C ₆ H ₁₄	0,01	líquido
Nitrógeno	N ₂	1,94	Gas
Gas Carbónico	CO ₂	0,39	Gas

Por otra parte, tenemos el gas natural, combustible que está formado por un conjunto de hidrocarburos livianos donde el principal componente es el metano (CH₄) en un porcentaje del orden del 80%, el resto está constituido por etano, propano, butano y otros hidrocarburos más pesados tales como pentanos, hexanos y heptanos (Tabla 2). Se trata de un gas combustible que proviene de formaciones geológicas, por lo que constituye una fuente de energía no renovable.

Además del metano, la presencia de dióxido de carbono, etano, propano, butano y nitrógeno, entre otros gases, hacen que el uso del gas natural sea contaminante.

Se origina espontáneamente en estructuras subterráneas en forma similar al petróleo. Estas se formaron hace millones de años como resultado de los sedimentos (restos de plantas y criaturas microscópicas) abundantes en materias orgánicas, que soportaron la acción bacteriológica, elevadas temperaturas y grandes presiones, provocando el asentamiento de capas de sedimentos hundidas en un lecho marino cubierto con lodo y arrastradas por las corrientes de los ríos. Al endurecerse el lodo, gradualmente se convirtió en roca sedimentaria y el peso de las nuevas rocas, que se apilaron encima de las rocas sedimentarias, originaron que estas fueran sometidas a altas presiones y temperaturas.

Además de su presencia en yacimientos fósiles, el gas natural puede obtenerse a partir de la descomposición de los restos orgánicos. Este proceso es promovido en plantas de tratamiento especializadas que producen el denominado biogás, una mezcla de gases obtenidos por fermentación anaerobia de la materia orgánica y está compuesto de CO₂ y CH₄ con vapor de agua (generalmente saturado de vapor a la salida del digestor) y trazas de otros compuestos como el SH₂, N₂, siloxanos, hidrocarburos halogenados así como partículas y espumas.

Para su utilización como combustible o primera materia para la fabricación de productos químicos (etanol, hidrógeno...) es necesario proceder a su depuración para eliminar los componentes que pueden disminuir el rendi-

miento o causar inconvenientes en la aplicación.

Actualmente se trabaja en la creación de membranas eficaces energéticamente para producir gas natural, y a su vez reducir emisiones de Dióxido de Carbono en las populares chimeneas térmicas o tubos de escape de vehículos.

Como es sabido el grafeno consiste en una sola capa de átomos de carbono colocados en una red hexagonal, similar a la de un panal de miel. Es por ello que afirman que el grafeno es un material ideal para crear una membrana de separación debido a sus características especiales, entre las que se incluyen su durabilidad y que no necesitan mucha energía para empujar a las moléculas por la membrana.

Al ser gaseoso a temperatura ambiente, no contamina los ríos y los océanos. Además, como suele contener poco azufre, se quema de forma limpia.

Sus utilidades son enormes, las más comunes son: Inyección en los yacimientos para el máximo aprovechamiento del petróleo, energía para las casas, industrias y servicios públicos, materia prima para la obtención de nuevos productos a través de procesos petroquímicos, proceso de desulfuración del petróleo, calefacción y combustión, fabricación de aceros de distinta consistencia, fabricación de hornos de fundición, fabricación de pilas de combustible y de automóviles que funcionan con gas natural.

5. CONCLUSIONES

No cabe duda que el descubrimiento de la importancia de los alcanos como fuente de energía ha marcado un hito en la historia de la humanidad y del progreso. Tanto el petróleo como el gas natural son los responsables de una gran cantidad de las comodidades de las que hoy en día gozamos e imaginarnos una vida sin ellas es bastante difícil. Pero no debemos olvidar que son energías no renovables y que debemos de realizar un uso responsable y comedido de ellos ya que se pueden agotar. Es por ello que cada vez son mayores las inversiones y el tiempo que se dedica a la búsqueda en la naturaleza de otras fuentes que muy probablemente tengamos delante de nuestros ojos y a nuestro alcance sin que sepamos hacer uso de ellas, no olvidemos que han sido necesarios veinte siglos para que descubriéramos la utilidad de esos hidrocarburos tan sencillos llamados alcanos.

REFERENCIAS

- [1] Web de diversas definiciones. <http://definicion.de>
- [2] Wikipedia, <http://es.wikipedia.org>
- [3] Harold Hart, Leslie E. Craine, David J. Hart, Christopher M.Hadad, "Química Orgánica", decimosegunda Edición.
- [4] <http://www.gfc.edu.co>
- [5] P. Iora, P. Silva, Innovative combined heat and power system based on a double shaft intercooled externally fired gas cycle. Applied Energy 105, 2013, Pages 108-115.
- [6] Web que da respuestas a las preguntas más frecuentes, <http://es.answers.yahoo.com>



María Manuela Romero Cisneros actualmente esta cursando primero de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide en Sevilla.

IÓNOFOROS

José Martín Gómez

Resumen—Los ionóforos son sustancias de origen microbiano que afectan a la permeabilidad normal de las membranas biológicas. A lo largo de este artículo conoceremos a dos de los ionóforos más conocidos, el DNP y la valinomicina.

Palabras Claves— Ionóforos, iones, valinomicina, 2,4-dinitrofenol, membranas.

1. CONCEPTO DE IONÓFORO

Los ionóforos son un variado grupo de moléculas que actúan aumentando la permeabilidad de las membranas celulares hacia determinados iones. Son sintetizados como mecanismo de defensa por microorganismos, principalmente bacterias y algunos hongos, aunque existen ejemplos de ionóforos artificiales.

Los iones son incapaces de atravesar la membrana plasmática de las células por sí solos, dada la alta hidrofobicidad del interior de éstas, y necesitan de canales proteicos que atraviesen la bicapa lipídica y proporcionen un interior hidrófilo para su paso. El transporte de iones está muy regulado por las células para mantener la concentración necesaria de cada ión en el interior. La función natural de los ionóforos es, por tanto, romper este equilibrio para inducir la muerte de las células.

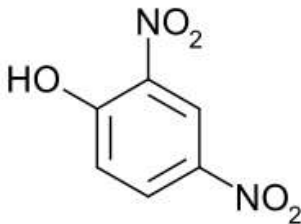


Fig. 1. Estructura del 2,4-dinitrofenol ^[1].

Existen dos mecanismos por los cuales los ionóforos permiten el transporte de iones:

- Por un lado, los ionóforos móviles son capaces de unirse al ión a transportar en una cara de la membrana, girar en ella y liberar el ión en el otro lado. Es el caso de la monensina, la valinomicina, la calcimicina o el 2,4-dinitrofenol.
- Otro tipo de ionóforos actúa formando canales que atraviesan completamente la membrana lipídica. Por ejemplo, la gramicidina o la nistatina.

2. EL 2,4-DINITROFENOL

El 2,4-dinitrofenol o DNP (Fig. 1) fue un medicamento usado en la década de los 30 como quemagrasa ^[1], debido

a su capacidad para acelerar de forma sorprendente el metabolismo de los consumidores. Sin embargo, pronto fue retirado del mercado tras provocar la muerte a un gran número de personas.

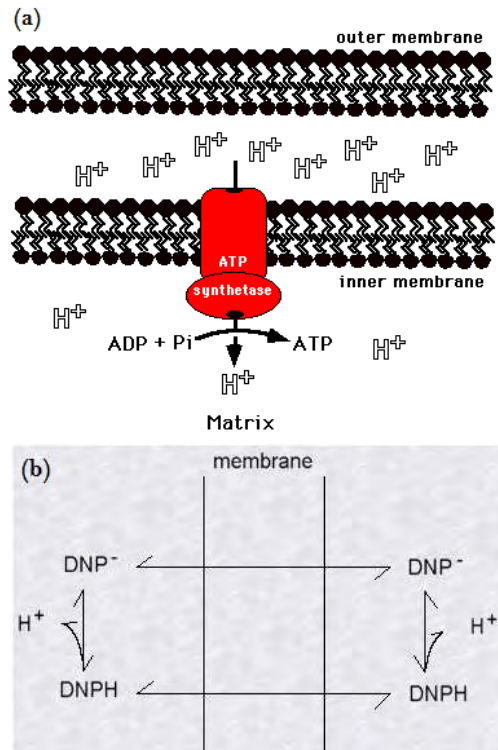


Fig. 2. (a) Funcionamiento de la ATP sintetas. (b) Mecanismo de acción del DNP ^[2]. El dinitrofenol lleva a cabo un transporte de protones en el mismo sentido que la ATP sintetas, pero no puede usar la energía liberada para la síntesis de ATP.

El DNP actúa como desacoplante de la cadena respiratoria mitocondrial: es un ionóforo que permite el paso de protones desde el espacio intermembrana de la mitocondria hacia la matriz, abriendo una vía de paso alternativa a la ATP sintetas (Fig. 2). En consecuencia, toda la energía acumulada en el gradiente de protones se pierde en forma de calor en lugar de ser usada para generar ATP. La pérdida de eficiencia de las mitocondrias es compensada con una mayor tasa de quema de grasa corporal. El exceso de calor puede provocar hipertermia y la muerte.

Pero, ¿a qué obedece la peligrosa actividad de este compuesto? La respuesta la encontramos en sus propiedades aromáticas.

2.1. LA QUÍMICA DEL DNP

Los fenoles son compuestos con un ligero carácter ácido [3], al contrario que otros alcoholes no aromáticos. Esta propiedad se debe a la aromaticidad del benceno, que estabiliza el anión fenóxido gracias a la deslocalización de la carga negativa sobre las posiciones orto y para.

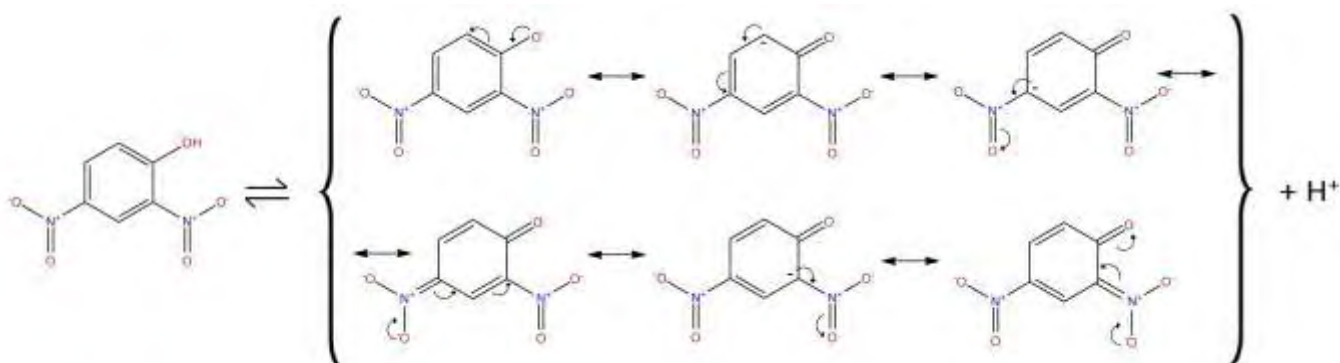


Fig. 3. Estructuras resonantes del DNP en su forma ionizada.

Esta acidez puede verse incrementada dependiendo de los sustituyentes que posea el anillo aromático, de forma que los grupos atractores de electrones como el grupo nitro aumentan la acidez del compuesto al contribuir a la deslocalización de la carga negativa y a la estabilidad de la molécula, especialmente si se encuentran en las posiciones orto y para, tal y como ocurre en el 2,4-DNP (Fig. 3). Y esta ligera acidez ($pK_a = 4.09$) es precisamente lo que permite al DNP transportar fácilmente protones a través de las membranas de mitocondrias, cloroplastos y bacterias.

TABLA 1
ACIDEZ DE VARIOS NITROFENOLES [4]

Compound		pK_a^c
2-Nitrophenol	2-NP	7.23 ^e
4-Nitrophenol	4-NP	7.08 ^e
2,4-Dinitrophenol	2,4-DNP	4.09 ^f
2,5-Dinitrophenol	2,5-DNP	5.22 ^d
2,6-Dinitrophenol	2,6-DNP	3.68 ^j

Por otra parte, la distribución homogénea de las cargas por toda la molécula permite que ésta sea ligeramente liposoluble, lo que le permite atravesar las bicapas lipídicas.

Una investigación dirigida por Grzegorz Nalecz-Jawecki y Jozef Sawicki [4] probó la relación entre la estructura molecular, la acidez y la toxicidad de varios nitrofenoles y dinitrofenoles. Para ello pusieron en contacto al protozoo *Spirostomum ambiguum* y a la bacteria *Vibrio fischeri* con los

diferentes compuestos en medios con diferentes niveles de pH.

En la tabla 1 podemos apreciar cómo varía la acidez de cada compuesto según su estructura. Ésta es mayor en los dinitrofenoles, y, dentro de éstos, en aquellos compuestos con los grupos nitro en posiciones orto y para (2,4-DNP y 2,6-DNP).

En la tabla 2 observamos los datos de toxicidad de los distintos compuestos para *Spirostomum ambiguum* en varios medios con pH creciente. Los compuesto más tóxicos

resultaron ser el 2,4 -DNP y el 2,5-DNP, y su toxicidad disminuía en medios más alcalinos, especialmente en los dinitrofenoles.

TABLA 2
TOXICIDAD DE LOS NITROFENOLES SEGÚN PH [$\mu\text{mol/L}$] [4]

	pH = 6	pH = 7	pH = 8
2-NP	316 ± 20 ^l	502 ± 62	1020 ± 183
4-NP	50.8 ± 8.0	75.8 ± 9.9	255 ± 11
2,4-DNP	8.80 ± 3.10	28.7 ± 7.3	74.5 ± 10.3
2,5-DNP	2.10 ± 0.30	7.56 ± 1.21	33.3 ± 17.3
2,6-DNP	9.60 ± 1.11	39.2 ± 9.1	192 ± 64

De esta forma, podemos concluir que es en ambientes ácidos, como el espacio intermembrana mitocondrial, donde la actividad de los DNP es máxima. Sin embargo, tal vez deberían haberse incluido en el estudio otros nitrofenoles como el 3,5-DNP para obtener datos concluyentes de lipofilia y acidez en relación con la toxicidad, teniendo ambos grupos nitro en posiciones meta, las menos favorables para estabilizar el anión fenóxido.

Aunque en la actualidad su uso como medicamento está prohibido, el 2,4-dinitrofenol sigue empleándose en la industria (producción de tintes, pesticidas...). Además, se emplea en investigación científica, especialmente dirigido al estudio de la actividad mitocondrial.

3. LA VALINOMICINA

La valinomicina (Fig. 4) es un péptido cíclico sintetizado por bacterias del género *Streptomyces*. Está formado por la triple repetición de la secuencia L-valina, ácido D-hidroxiacético, D-valina y ácido L-láctico [5] [6] [7].

En un disolvente apolar, como una membrana lipídica, los 12 grupos carboxilo que posee se disponen hacia el interior del ciclo, y su carácter aniónico les permite interaccionar con los cationes, formando un complejo coordinado octaédrico de los seis carbonilos de las valinas con, especialmente, el K^+ .



Fig. 4. Estructura de la valinomicina. En morado, el ion potasio, formando un compuesto coordinado octaédrico con los seis átomos de oxígeno, en rojo.

Los grupos isopropilo y metilo se disponen, por el contrario, hacia el exterior del anillo, y su hidrofobicidad permite que pueda moverse libremente por la membrana plasmática celular. Los bordes polar y apolar de la molécula pueden intercambiarse, de forma que cuando la valinomicina se encuentra en un disolvente polar, los grupos carbonilo se sitúan en el exterior.

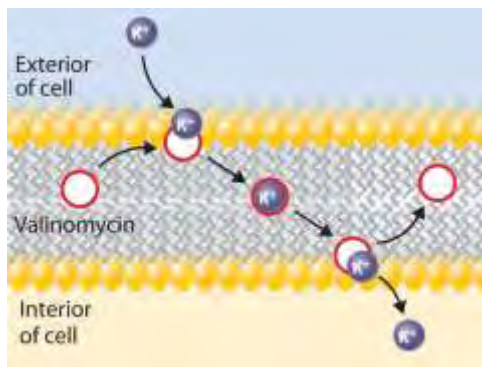


Fig. 5. Mecanismo de acción de la valinomicina.

La valinomicina tiene acción antibiótica y actúa aumentando la permeabilidad de las células a iones monovalentes (Fig. 5). Posee una gran afinidad por el potasio y menor afinidad por el sodio, cuyo radio es menos favorable

para formar el complejo en el anillo.

En el interior de las células, la concentración de K^+ es de 140 mM, mientras que en el exterior es de aproximadamente 5 mM. Por el contrario, la concentración de Na^+ intracelular es de 5-15 mM y en el exterior de 145 mM. Estos gradientes son generados y mantenidos gracias a las bombas de sodio-potasio, que usan ATP para introducir potasio y expulsar sodio de forma constante. Esta actividad consume hasta el 30% del ATP de las células y es imprescindible para un gran número de procesos biológicos, como el simporte de glucosa, la transmisión del impulso nervioso o el control del equilibrio osmótico y el volumen celular.

Cuando la valinomicina afecta a una célula, la elevada concentración de potasio en el citosol va disminuyendo y la de sodio va aumentando, provocando la muerte de la célula.

Diversos experimentos [8] relacionan la actividad de la valinomicina con la de la ATPasa de sodio-potasio.

En una prueba con eritrocitos infectados con babesiosis (enfermedad parasitaria parecida a la malaria provocada por el protozoo *Babesia*), se usaron dos muestras de células que trataron con valinomicina.

El primer grupo de eritrocitos, denominados eritrocitos LK (low potassium), tenían una baja concentración de potasio y una alta concentración de sodio (actividad de la bomba Na^+/K^+ nula). En este caso la valinomicina conseguía acabar con la mayoría de los parásitos.

En cambio, cuando se trataba de eritrocitos HK (high potassium) en los que había una actividad Na^+/K^+ ATPasa correcta, se conseguía una actividad antiparásita disminuida.

En el primer caso, la valinomicina apenas afectaba a los eritrocitos al haber un menor gradiente iónico, y en cambio atacaba a los parásitos. Por el contrario, en los eritrocitos HK, la valinomicina provoca un aumento del sodio intracelular y una disminución del potasio. Esto lleva a una actividad por encima de lo normal de la bomba Na^+/K^+ y a un consumo excesivo de ATP, provocando la lisis en las células sanguíneas en lugar de en *Babesia*. Sin embargo, al usar ouabaina, un inhibidor de la bomba Na^+/K^+ , la actividad antiparásita de la valinomicina volvía a niveles normales. Además, la incubación de los eritrocitos LK en un medio con elevada concentración de potasio frenaba la actividad antiparásita de la valinomicina, ya que ayuda a restaurar las concentraciones iniciales en las células.

4. IONÓFOROS: UN MUNDO POR DESCUBRIR

El dinitrofenol y la valinomicina son dos de los ionóforos más estudiados, pero la lista de este tipo de moléculas es muy larga, y sigue ampliándose. Algunos de ellos son el centro de un gran número de investigaciones que intentan usar sus propiedades en nuestro beneficio. Un excelente ejemplo es la calcimicina, un ionóforo de calcio que podría ser usado como tratamiento contra el cáncer por su capacidad de inducir la apoptosis en las células a las que

ataca; así como en tratamientos de fertilidad, al ser capaz de inducir la activación del huevo tras la fecundación al incrementar los niveles de calcio intracelulares.

Está en nuestras manos, por tanto, saber aprovechar este tipo de compuestos útiles que la naturaleza nos ofrece.

REFERENCIAS

- [1] <http://en.wikipedia.org/wiki/2,4-Dinitrophenol>
- [2] <http://www.life.illinois.edu/crofts/bioph354/lect14&15.html>
- [3] <http://slideshare.net/nickistorni/fenoles-teora>
- [4] G. Nalecz-Jawecki, J. Sawicki, "Influence of pH on the toxicity of nitrophenols to Microtox and Spirotox tests", *Chemosphere*, vol. 52 (2003), pp. 249-252.
- [5] S. Yamamoto, H. Watarai, P. Bouř, "Monitoring the Backbone Conformation of Valinomycin by Raman Optical Activity", *ChemPhysChem*, vol. 12, no. 8, Jun. 6, 2011, pp. 1509-1518.
- [6] L. K. Steinrauf, J. A. Hamilton, M. N. Sabesan, "Crystal structure of valinomycin-sodium picrate. Anion effects on valinomycin-cation complexes", *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 104, no. 15, Jul. 1982, pp 4085-409, DOI: 10.1021/ja00379a008.
- [7] <http://en.wikipedia.org/wiki/Valinomycin>
- [8] Yamasaki, M., Nakamura, K., Tamura, N., Hwang, S.-J., Yoshikawa, M., Sasaki, N., Ohta, H., Yamato, O., Maede, Y., Takiguchi, M., "Effects and mechanisms of action of ionophorous antibiotics valinomycin and salinomycin-Na on *Babesia gibsoni* in vitro", *Journal of Parasitology*, vol. 95, no. 6, Dec. 2009, pp. 1532-1538.



José Martín Gómez (Bonares, Huelva) es estudiante de primer curso del grado en Biotecnología en la universidad Pablo de Olavide, Sevilla. Su interés profesional se centra en la investigación biotecnológica, especialmente sus en aplicaciones biomédicas.

La morfina: sus propiedades no descubiertas

Marina Segura Benítez

Resumen—En las últimas décadas se ha prescindido de la utilización de la morfina como analgésico a causa de sus efectos secundarios y su efecto adictivo. Sin embargo, recientes estudios indican que podría administrarse sin estos efectos y además ser más beneficiosa que otras drogas similares. ¿Debería ser por ello administrada con más frecuencia?

Palabras Claves—Morfina, analgésico, investigaciones, medicina.

La morfina es el principal alcaloide fenantreno presente en el opio. Se trata de una droga medicinal cuya estructura molecular es $C_{17}H_{19}NO_3$, y su nomenclatura (5 α , 6 α)-Didehidro-4,5-epoxi-17-metilmorfinan-3,6-diol (Figura 1), pero se administra en forma sulfatada, siendo esta estructura $(C_{17}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$. La morfina se aisló en forma pura por primera vez en 1805; su estructura correcta se estableció en 1925 y se logró sintetizar por primera vez en 1952, empezándose a utilizar a gran escala durante la Guerra de Secesión.

Es un analgésico que combate el dolor agudo pero sin causar inconsciencia, también utilizado para combatir la adicción a ciertas drogas derivadas de ella, tales como la cocaína o la heroína. Su gran inconveniente es que causa adicción, con lo que su utilización está decreciendo a medida que aparecen nuevas drogas sintéticas no adictivas.

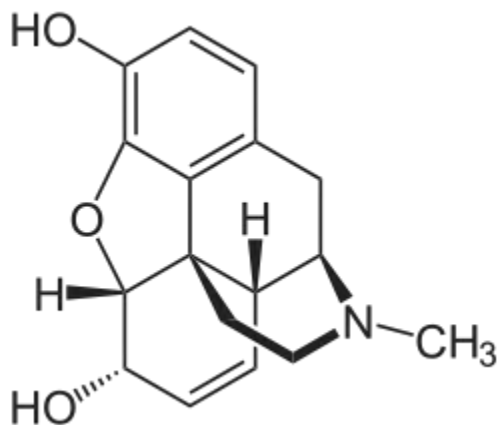


Figura 1. Estructura molecular de la morfina, que entre otras subestructuras contiene heterociclos como la piperidina y el fenol un, grupo hidroxilo y ciclohexanos.

Muchas drogas actuales son derivados de la morfina, es decir, tienen su misma estructura pero con ligeras modificaciones en esta. Así, su acetilación produce la heroína, su metilación parcial conduce a la codeína, ... Otros derivados son el demerol, la metadona o el tramadol. En teoría, estos derivados son intentos de encontrar productos parecidos a la morfina pero con menos efectos secundarios, aunque el consumo abusivo de algunos de ellos se ha convertido en un grave problema en la sociedad, como es el caso de la heroína. Actualmente se sigue buscando el "analgésico perfecto", es decir, aquel que no posea efectos secundarios ni cause adicción.

La síntesis total de la morfina fue uno de los primeros ejemplos de la reacción de Diels-Alder en el contexto de una síntesis total, la cual tiene lugar entre un dieno y un dienófilo. El mecanismo es el que se puede apreciar en la Figura 2, en el cual se identifican varios tipos de reacciones tales como hidratación o alquilación.

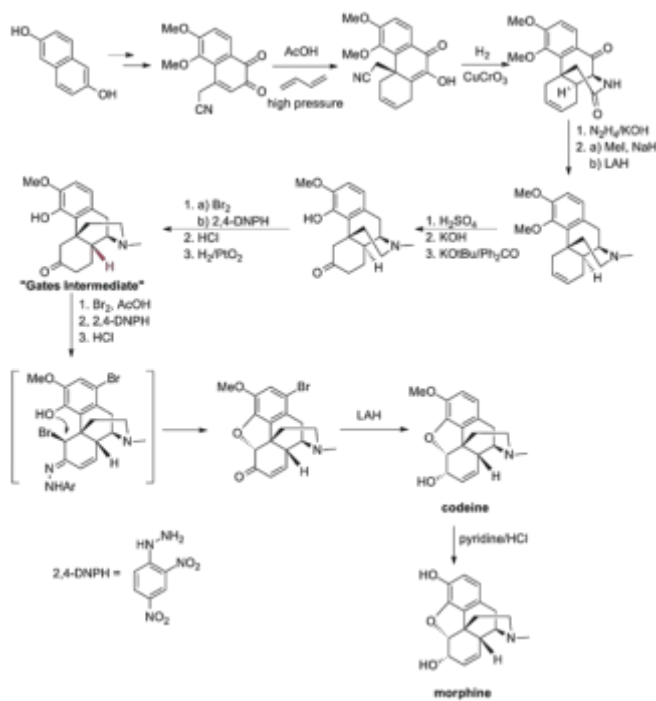


Figura 2. Síntesis total de la morfina.

La morfina se utiliza con fines médicos de manera legal en diversas circunstancias como, por ejemplo, analgésico a nivel hospitalario, así como distintos y múltiples dolores en el infarto agudo de miocardio, post-quirúrgico, asociado con golpes, ... Uno de sus usos más extendidos es su uso en el tratamiento del dolor de enfermos con cáncer en estado terminal, hecho que refleja el poder analgésico tan fuerte que posee esta droga. Pero, como toda medicina, posee muchas contraindicaciones, algunas bastante peligrosas, de las cuales las más significativas son la mala respiración, pancreatitis aguda, fallos renales o intoxicaciones.

La morfina, por tanto, presenta efectos secundarios serios. Además de la adicción puede causar náuseas, disminución de la presión sanguínea y depresión del ritmo respiratorio. La reducción del tono del sistema nervioso simpático en las venas periféricas produce un estancamiento con reducción del retorno venoso, gasto cardíaco y presión arterial. Además, tiene una toxicidad química que puede ser letal para personas con baja tolerancia, con lo que hay que saber muy bien el estado y tolerancia de cada paciente antes de ser administrada.

En una investigación reciente se llevó a cabo un estudio de la morfina enfocado a determinar su eficacia dependiendo de la cantidad administrada. Para ello, a 40 pacientes se les administraron al azar 0,2 o 0,3 mg de morfina intravenosa, antes de administrar la anestesia general. Después de la operación, a las 24 y 48 horas no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos en cuanto a la necesidad de mepiridina (analgésico derivado de la morfina que se utiliza para paliar el dolor postoperatorio en el tiempo inmediatamente posterior a la intervención). Tampoco se encontraron diferencias entre el tiempo en el que los enfermos no sufrían dolores, ni de la primera vez que comieron y que bebieron. Además, un paciente del grupo de 0,3mg desarrolló una depresión del ritmo respiratorio por un corto periodo de tiempo. La conclusión de esto fue que la dosis de 0,2 era tan efectiva como la de 0,3, y que se debe tener cuidado en la dosis, pues si se incrementa se pueden desarrollar problemas respiratorios sin el beneficio de una bajada de consumo de mepiridina postoperatoria.

Otro estudio ha descubierto que la morfina intravenosa reduce la pérdida de sangre durante las cirugías. Este estudio empezó en enero de 1993, y se desarrolló hasta 2003. 128 pacientes fueron operados de escoliosis por el mismo equipo médico. A estos 128 pacientes no se les administró morfina intravenosa. A partir de 2003 y hasta febrero de 2012 otros 128 pacientes fueron operados igualmente pero con dosis de morfina. Ambos grupos eran iguales en edad, porcentaje de chicos y chicas, peso y duración de la operación. Los resultados fueron esperanzadores: la pérdida de sangre se redujo en un 63,4% (Figura 3), en cambio, muchos más pacientes del primer grupo necesitaron transfusiones de sangre, y en mucha más cantidad.

fina, y se observa una bajada brusca de esta pérdida.

En conclusión, podemos afirmar que la morfina es una sustancia con propiedades beneficiosas y que aún nos queda mucho por descubrir sobre ella, y hasta que no se encuentre un analgésico perfecto será la más eficaz de este gran grupo de drogas medicinales en la que se encuentra.

REFERENCIAS

- [1] Figuras 1 y 2 tomadas de Wikipedia. Figura 3 tomada del artículo de la mencionada investigación.
- [2] M.D. Edmond Cohen, "Intrathecal Morphine: The Forgotten Child", *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, vol. 27, no. 3, pp. 413-416, June 2013.
- [3] Aleksandra B. Lesniak, Pierre Tremblay, Bernard J. Dalens, Maryse Aucoin & Pierre Mercier, "Intrathecal morphine reduces blood loss during idiopathic scoliosis surgery: retrospective study of 256 pediatric cases", *Pediatric Anesthesia*, vol. 23, pp. 265-270, November 2012, doi:10.1111/pan.12096.
- [4] Harold Hart, Leslie E. Craine, David J. Hart, Christopher M. Hadad, *Química orgánica*, McGrawHill, pp. 403, 2007.
- [5] Wikipedia. <http://es.wikipedia.org/wiki/Morfina>
- [6] Web de la Universidad Autónoma de Madrid. <http://www.uam.es/departamentos/medicina/anesnet/agenda/farmacologia/morfina.htm>
- [7] Base datos Pubchem. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=5288826#x27>
- [8] Base de datos Drugbank. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00295>

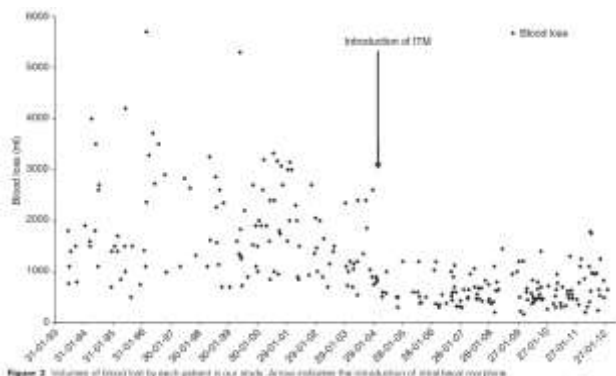


Figura 3. Gráfica en la que se refleja la pérdida de sangre por año de los pacientes. En el lugar de la flecha se introdujo el uso de mor-

MOLEQLA AMBIENTAL

MoleQla

LÍQUIDOS IÓNICOS: PROPIEDADES y APLICACIONES

José Manuel Vicent Luna

Resumen— Los líquidos iónicos representan una nueva gama de posibilidades tecnológicas al usarlos en innumerables aplicaciones en áreas como la química y en la ingeniería. El estudio de sus propiedades, conocer y predecir su comportamiento está muy demandado en la actualidad.

Palabras Claves— líquidos, iónicos, sales, aplicaciones, disolvente

Desde hace un par de décadas se ha incrementado el interés por el desarrollo de procesos y aplicaciones de unos nuevos compuestos químicos llamados líquidos iónicos. Se denomina líquidos iónicos a sales compuestas por un catión orgánico, y un anión inorgánico u orgánico, que se presentan en estado líquido en un amplio rango de temperatura (generalmente bajo los 100 °C) en el cual otras sales se encuentran sólidas (Figura 1).



Fig. 1. Ejemplo de líquido iónico utilizado como disolvente verde [1].

La combinación de diferentes aniones y cationes da lugar a un enorme número de líquidos iónicos con propiedades físico-químicas diferentes. Estas propiedades los hacen ventajosos frente a otras opciones en diversas aplicaciones, en primer lugar, poseen una muy baja presión de vapor, son muy estables química, electroquímica y térmicamente. Además su volatilidad es prácticamente nula, no son tóxicos ni inflamables, poseen una alta conductividad iónica, capacidad calorífica y viscosidad. Por otra parte, además de las características funcionales de estos compuestos, otro factor a tener en cuenta es la compatibilidad ambiental que ofrecen [2]. Por este motivo los líquidos iónicos son candidatos muy potentes para reemplazar los llamados “compuestos orgánicos volátiles”, solventes comunes en la industria, estos últimos sujetos cada vez a más restricciones ambientales. Cabe destacar

que variando el catión y anión utilizados, puede ajustarse la capacidad de disolución e hidrofobicidad dependiendo de la aplicación deseada. Por esta razón los líquidos iónicos son conocidos como “los disolventes verdes”.

Esta versatilidad hace que puedan ser usados en una gran cantidad de aplicaciones [3], como por ejemplo fluidos para la transferencia de calor, sustrato para catalizadores, lubricantes, membranas, electrolitos en capacitores y células solares [4]. Los líquidos iónicos se utilizan también en procesos de separación y extracción de gases, como por ejemplo purificación de gas natural [5], captura y separación de dióxido de carbono, etc. Recientemente también han sido empleados en extracción de mezclas en estado líquido, como es el caso de separación de alcoholes y agua, para la producción de combustibles menos contaminantes que los combustibles fósiles. Entre otros, se contemplan la separación de etanol y agua para la producción de bioetanol [6].

Otra aplicación que se puede destacar es el uso de líquidos iónicos como componentes de los cristales líquidos iónicos [7], materiales que combinan las propiedades de los cristales líquidos -sustancias que presentan una fase intermedia entre un sólido y un líquido- y las de los líquidos iónicos (Figura 2). El uso más común de los cristales líquidos iónicos es la fabricación de pantallas LCD de monitores y televisiones.

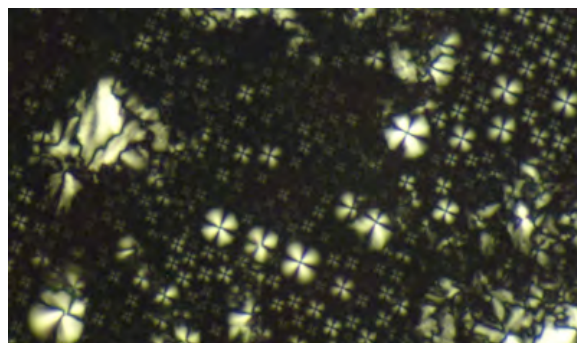


Fig. 2. Fotografía de la fase de cristal líquido iónico a 140 °C, obtenida con un microscopio óptico de luz polarizada [7].

Por último otro uso de los líquidos iónicos es la combinación de éstos con polímeros naturales o gelatinas para la formación de gelatinas iónicas (Figura 3). Estos materiales combinan las propiedades de los líquidos iónicos con las de los polímeros, dando lugar a dispositivos flexibles. La importancia de estos compuestos reside en la posibilidad de tener materiales en estado sólido con las propiedades los líquidos iónicos. Las gelatinas iónicas son usadas en diversas aplicaciones de gran interés como por ejemplo electrolitos flexibles, biosensores y dispositivos administradores de fármacos.

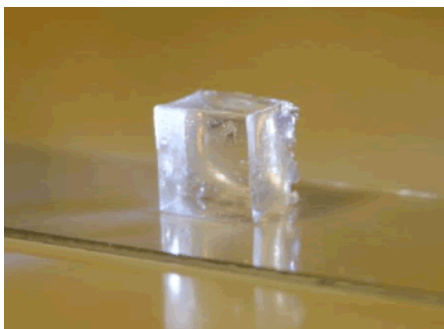


Fig. 3. Fotografía de un cubo de gelatina iónica (*ion jelly*) [8].

Toda esta amplia gama de aplicaciones hace de los líquidos iónicos unos compuestos cuyo estudio se ha convertido en uno de los temas más interesantes a abordar. Como vemos estas sales son interesantes, no solo por si mismas, sino también por la capacidad que tienen para combinarse con otros materiales y la diversidad de aplicaciones en las que pueden ser utilizadas.

REFERENCIAS

- [1] <http://www.andaluciainvestiga.com/espanol/noticias/5/9762.asp>
- [2] "Ionic Liquids as a Green Solvent for Lignin". <http://dx.doi.org/10.1080/02773810701282330>
- [3] Plechkova, N. V.; Seddon, K.R. "Applications of ionic Liquids in the chemical industry". Chem. Soc. Rev. 2008, 37, 123-150.
- [4] Guillen et al, Solar Energy Materials and Solar Cells, 2009,93, 1846-1852.
- [5] D.D. Iarikov a, P. Hacarlioglu a, S.T. Oyama "Supported room temperature ionic liquid membranes for CO₂/CH₄ separation". Chemical Engineering Journal 166, 2011, 401-406.
- [6] Coutinho et al. "Separation of ethanol-water mixtures by liquid-liquid extraction using phosphonium-based ionic liquids". Green Chem., 2011, 13, 1517-1526.
- [7] M. Trilla, R. Pleixats, and M. Wong Chi Man. "Ionic Liquid Crystals Based on Mesitylene-Containing Bis- and Trisimidazolium Salts" Langmuir 2008 24 (1), 259-265.
- [8] "Ion jelly: a tailor-made conducting material for smart electrochemical devices" <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2008/CC/b811647d>



José Manuel Vicent Luna licenciado en Ciencias Físicas por la Universidad de Córdoba en el año 2011. Durante su formación académica realizó actividades de alumno colaborador en el área de Física del Plasma del departamento de Física de la Universidad de Córdoba. Así mismo en 2010 realizó prácticas de empresa en el Almacén Centralizado de RBMA EL CABRIL en el departamento de Protección Radiológica y Medio Ambiente de la empresa nacional de residuos radiactivos S.A. (Enresa). En enero de 2012 comenzó su doctorado en el grupo RASPA del departamento de Sistemas Físicos, Químicos y Naturales de la Universidad Pablo de Olavide. Su investigación se basa en la simulación molecular de materiales nanoporosos y líquidos iónicos con aplicaciones tecnológicas.

bio



informática

R aplicado a la Bioinformática

Israel León-Rodríguez

Resumen—En el presente artículo veremos el conjunto de utilidades que nos ofrece *R* y la instalación de varias librerías diseñadas especialmente para bioinformática. Además se darán los primeros pasos en este lenguaje junto con algunos ejemplos, demostrando que en poco tiempo se puede llegar a manejar este lenguaje y ser realmente útil .

Palabras Clave—*R*, SeqinR, Bioconductor.

1. INTRODUCCIÓN

El lenguaje de programación estadística *R* nos facilita la manipulación de datos, hacer cálculos y gráficas. Gran parte de la funcionalidad que presenta *R* es la cantidad de operadores y funciones que podemos utilizar sobre arreglos (vectores) y matrices. *R* ya aporta de por sí mucha funcionalidad en este aspecto pero se puede incluir librerías o paquetes que mejoren este aspecto, existen varias, En este documento se verán dos de ellas: Bioconductor y SeqinR.

Abril, 2013

2. INSTALACIÓN DE *R*

Desde 1997, *R* ha sido manejado por el *R* Development Core Team y se ha mantenido como “open-source”. Puede ser descargado desde su página web de forma gratuita [6]. Dicha página da soporte para distintos sistemas operativos, junto con guías para facilitar su instalación. Además están disponible varios manuales para su mejor uso.

2.1. Instalación de librerías

Una vez instalado *R*, se necesitará instalar alguna de las numerosas librerías para poder ser realmente útil en el campo de la bioinformática. En este caso se instalarán los dos paquetes comentados anteriormente.

Una vez ejecutado *R* y apareciendo en la pantalla principal el prompt “>”, se procederá a introducir las instrucciones necesarias para comenzar la instalación de los paquetes.

2.1.1. Librería SeqinR

Para instalar SeqinR solo se tiene que introducir en la consola la siguiente instrucción:

```
> library("seqinr")
```

La principal utilidad de esta librería es la de trabajar con secuencias de ADN. Con ella se puede leer ficheros en formato FASTA. Como se verá más adelante, estos ficheros se pueden descargar de las principales bases de datos como NCBI, EMBL o DDJ.

2.1.2. Librería Bioconductor

Bioconductor es un grupo de paquetes desarrollados para ser usados en la bioinformática, el cual incluye 672 paquetes entre los que se pueden encontrar “Biostrings”, que permite manejar cadenas de texto para la manipulación de grandes secuencias biológicas o conjuntos de secuencias, o “yeastExpData”, que es una colección de diferentes conjuntos de datos experimentales sobre la levadura.

El procedimiento anterior se puede utilizar para la mayoría de los paquetes de *R*. Sin embargo, el conjunto de paquetes de Bioconductor necesita ser instalado mediante un procedimiento especial. Para instalar Bioconductor es necesario introducir las siguientes instrucciones en la consola de *R*:

```
>source("http://bioconductor.org/biocLite.R")
>biocLite()
```

Con ello se instala el núcleo de Bioconductor con los principales paquetes. En la página web [3] se puede encontrar más información sobre los numerosos paquetes que incluye. Para instalar algunos de los paquetes que no se instalan por defecto, se introducirá la siguiente secuencia en la consola de *R*:

```
>source("http://bioconductor.org/biocLite.R")
>biocLite("yeastExpData")
```

3. PRIMEROS PASOS EN *R*

En el presente documento se partirá de un ejemplo para ver la utilidad de *R* para la bioinformática. Existen numerosos manuales de aprendizaje de *R* [1, 2, 8] que se pueden consultar. Aún así se tratará de comentar brevemente algunos aspectos del lenguaje de programación utilizado en los ejemplos.

3.1. Aplicando *R* a la bioinformática

Para la siguiente parte se utilizará como ejemplo la secuencia de ADN del virus del Dengue. Se podrá acceder a esta publicación desde NCBI y obtenerse en formato FASTA [7]. En este caso el archivo se llamará “den1.fasta”. Una vez descargado el archivo, se puede utilizar de una manera muy simple mediante la librería “seqinr”:

```
> dengue <- read.fasta(file = "den1.fasta")
```

En este caso, el objeto dengue es una lista con la información del archivo FASTA. Para acceder a la secuencia de nucleótidos se hará de la siguiente manera:

```
> dengueseq <- dengue[[1]]
> dengueseq[1:3]
[1] "a" "g" "t"
```

En el ejemplo anterior se puede ver como se accede a la lista de nucleótidos que contiene el objeto dengue y este a su vez se asigna a la variable dengueseq utilizando para ello <-.

A continuación se verá el número de nucleótidos que componen la cadena y el número de cada uno de ellos:

```
> length(dengueseq)
[1] 10735
> table(dengueseq)
dengueseq
  a   c   g   t
3426 2240 2770 2299
```

En este caso se ha hecho uso de funciones que incorpora R. Como se ve, se ha pasado como parámetro el vector dengueseq.

Hasta ahora se han utilizado funciones incluidas en R. A continuación se utilizará GC, función incluida en el paquete SsqinR que permite calcular el contenido de guanina y citosina:

```
> GC(dengueseq)
[1] 0.4666977
```

Además de la frecuencia con la que aparecen los diferentes nucleótidos, puede ser de interés la frecuencia con la que aparecen "palabras" en la secuencia de ADN. Para ello se utilizará la función "count()". En el siguiente ejemplo se verá cómo hallar palabras formadas por dos nucleótidos:

```
> count(dengueseq, 2)
aa ac ag at... ta tc tg tt
1108 720 890 708 ... 440 497 832 529
```

3.2. Representar datos de forma gráficas

Anteriormente, al usar la función "GC()" se obtuvo un valor de 46.7% sobre la secuencia de nucleótidos completa. Es probable que haya variaciones de este porcentaje si se estudia la cadena en trozos más pequeños. Esto dará información sobre posibles casos de transferencia horizontal o mutaciones sesgadas.

Se utilizará este ejemplo para ilustrar el uso de funciones y representar los datos de forma gráfica. Para ello se empezará calculando los GC de la cadena dividiéndola en pedazos de 2000 nucleótidos:

```
> GC(dengueseq[1:2000])
[1] 0.465
> GC(dengueseq[2001:4000])
[1] 0.4525
⋮
> GC(dengueseq[10001:10735])
[1] 0.4993197
```

R permite simplificar tareas como la vista en el anterior ejemplo, haciendo uso de algunas instrucciones propias de R:

```
> starts <- seq(1, length(dengueseq)-2000, by = 2000)
> starts
[1] 1 2001 4001 6001 8001
> n <- length(starts)
> chunkGCs <- numeric(n)
> for (i in 1:n)
chunk <- dengueseq[starts[i]:(starts[i]+1999)]
chunkGC <- GC(chunk)
print(chunkGC)
chunkGCs[i] <- chunkGC
```

En el ejemplo anterior, se ha creado un vector con los intervalos en los que se ha dividido la cadena de ADN y se ha obtenido el número de intervalos que se utilizará junto a la instrucción for. Como se ha visto, la tarea es mucho más simple de realizar. A continuación se representarán los datos obtenidos:

```
> plot(starts,chunkGCs,type="b",xlab="Nucleotide start position",ylab="GC content")
```

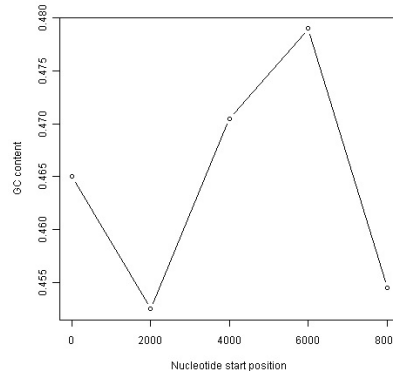


Figura 1. Contenido GC por intervalo de nucleótido

En la Fig:1 se puede ver el contenido de guanina y citosina por cada intervalo creado.

Por otro lado R permite crear funciones mediante la función "function()". Se construirá una función utilizando dicho ejemplo para demostrar su utilidad. En este caso la función se llamará slidingwindowplot:

```
> slidingwindowplot <- function(windowsize, inputseq)
starts <- seq(1, length(inputseq)-windowsize, by = windowsize)
n <- length(starts) chunkGCs <- numeric(n)
for (i in 1:n)
chunk <- inputseq[starts[i]:(starts[i]+windowsize-1)]
chunkGC <- GC(chunk)
print(chunkGC)
chunkGCs[i] <- chunkGC
plot(starts,chunkGCs,type="b",xlab="Nucleotide start position",ylab="GC content")
```

Con esto se consigue crear una función personalizada la cual se puede llamar en todo momento y tan solo se tendrá que indicar el tamaño de los intervalos y la cadena de nucleótidos. En este caso la función incorpora la representación gráfica de los datos. A continuación se verá el resultado de su ejecución:

```
> slidingwindowplot(300, dengueseq)
```

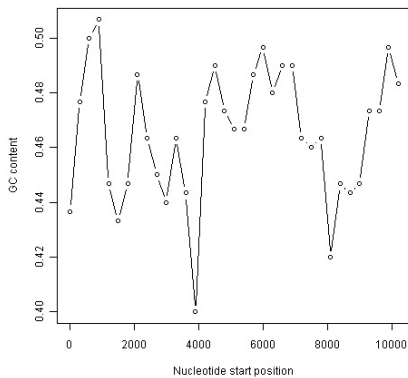


Figura 2. Incrementando el tamaño del intervalo.

R ofrece muchas opciones a la hora de representar gráficas árboles de tallo y hoja, gráficos de cajas, histogramas, gráficos de puntos y gráficos circulares, entre otros muchos.

3.2.1. Representar datos tridimensionalmente

El hecho de representar datos de forma tridimensional hace que los datos sean más comprensibles al ojo humano. *R* tiene multitud de funciones para representar datos en 3D. *Persp* y *scatter3d* son algunas de ellas. A continuación se muestra una representación de los datos en 3D:

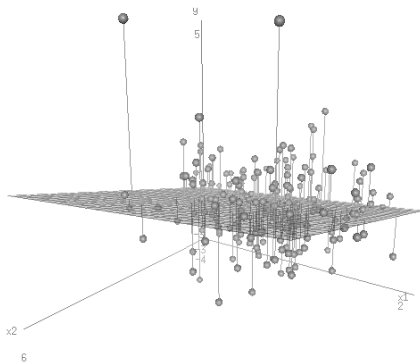


Figura 3. Representación en *scatter3d*.

4. CONCLUSIONES

Como se ha podido ver *R* es una herramienta muy útil y su aprendizaje no es muy complejo. Permite optimizar muchísimos los cálculos con el uso de funciones y la representación gráfica de los datos ayuda a una mayor comprensión de los cálculos realizados.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Pablo de Olavide, en especial al profesor doctor Norberto Díaz Díaz y al profesor Francisco Antonio Gómez Vela por haber hecho posible este artículo durante el curso académico 2012-2013.

REFERENCIAS

- [1] A Little Book of R For Bioinformatics, Coghlan A, 2011
- [2] Applied Statistics for Bioinformatics using R, Wim P. Krijnen, 2009
- [3] Web de los desarrolladores de Bioconductor: <http://www.bioconductor.org/>
- [4] Web de los desarrolladores de R: <http://www.r-project.org/>
- [5] Web del instituto "Institute for Integrative Genome Biology": http://manuals.bioinformatics.ucr.edu/home/R_BioCondManual
- [6] Web de descarga de R <http://cran.r-project.org>
- [7] Enlace con la secuencia de ADN del virus del Dengue: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NC_001477
- [8] web con tutoriales y listado de funciones: http://www.sr.bham.ac.uk/ajrs/R/r-function_list.html



Israel León-Rodríguez Finalizó el ciclo formativo de Equipos Electrónicos de Consumo(2004) seguido del ciclo formativo de Sistemas de Telecomunicaciones e Informática(2006), habiendo trabajado en el parque de atracciones Isla Mágica desde 2006 a 2010 como técnico multimedia. Actualmente cursando el Grado en Ingeniería Informática en Sistemas de Información en la Universidad Pablo de Olavide desde el año 2010.

BioJava; Framework para bioinformáticos

Abel Cuevas Moreno

Resumen—BioJava es un proyecto de código abierto distribuido bajo licencia LGPL para el procesamiento de datos biológicos usando el lenguaje de programación Java. Se ha lanzado una reciente actualización del código fuente, estructurando el mismo en módulos independientes.

El módulo del núcleo proporciona una representación concreta de los pasos que hay que seguir para convertir una secuencia de un gen a una secuencia de una proteína.

Palabras Clave—BioJava, Maven, LGPL, ADN, Núcleo.

1. INTRODUCCIÓN

BioJava forma parte de un proyecto de código abierto, desarrollado por voluntarios y coordinado por la organización "Open Bioinformatics Foundation" (OBF, <http://www.open-bio.org>), que proporciona un framework para el tratamiento de datos biológicos bajo el lenguaje de programación Java. Incluye una serie de librerías con módulos independientes que proporcionan una serie de herramientas para realizar estudios relacionados con la biología, entre las que destacan la comparación de la estructura de proteínas, trabajar con secuencias de ADN, analizar las propiedades de los aminoácidos o detectar modificaciones en las proteínas. Todo el código puede ser utilizado de manera gratuita y libre al ser distribuido bajo la licencia LGPL, licencia de software creada por la "Free Software Foundation" que garantiza la libertad de compartir y modificar el software cubierto por ella, asegurando que es libre para todos los usuarios.

Abril, 2013

2. BIOJAVA 3

BioJava es un framework compuesto por una serie de módulos independientes, entre los que destacan "Core Module" (módulo del núcleo), Protein Module o Genomic Module, que han sido compilados usando una herramienta en línea de comandos conocida como Maven.

Recientemente se ha lanzado una actualización del código fuente de BioJava, dando lugar a BioJava 3, aunque el código de BioJava se conserva por motivos de compatibilidad.

Seguidamente explicaremos qué es un Framework, qué es y cómo funciona Java, qué es y cómo funciona el módulo del núcleo de BioJava, para lo cual nos basaremos en un ejemplo de un proceso biológico, como es la transcripción del ADN, centrándonos en

las nuevas características de la última versión de BioJava 3.

2.1. Java

Java es un lenguaje de programación creado a mediados de la década de los 90 por Sun Microsystems. La característica principal que diferencia a éste de otros lenguajes de programación es que las aplicaciones de Java son compiladas a lo que se conoce como Bytecode (o clases Java), lo que permite que puedan ejecutarse en cualquier máquina que integre la JVM (Java Virtual Machine). Esto permite que dispositivos de cualquier tipo funcionen gracias a código Java, desde televisores a lavadoras.

Otra característica que define la idiosincrasia de Java es que está basado en Clases, y orientado a Objetos. Una Clase define la forma y el comportamiento del Objeto. El Objeto es una instanciación de la clase, a través del cuál controlamos los atributos y métodos de la misma.

2.2. Framework

El concepto de Framework no es sencillo de definir. De forma general, un Framework es un esquema, un esqueleto, un patrón para el desarrollo y/o la implementación de una aplicación. Define un conjunto estandarizado de conceptos, prácticas y criterios para enfocar cualquier desarrollo software, haciendo que el programador no tenga que preocuparse de estructurar la aplicación. BioJava proporciona a Java un Framework para el procesamiento de datos biológicos.

Que BioJava sea un Framework supone numerosas ventajas desde el punto de vista de la bioinformática, ya que facilita el desarrollo rápido de aplicaciones. Al ser un Framework orientado a objetos sus componentes son clases que forman parte de una gran jerarquía de clases, lo que deriva en bibliotecas que resultan más fáciles de aprender a utilizar.

2.3. Módulos

El concepto de módulo en BioJava está ligado al de Clase. Cada módulo viene representado por una serie de clases, que contendrán una serie de atributos y métodos que especifiquen su funcionalidad.

2.4. Núcleo

El núcleo es un módulo de BioJava que representa una colección de clases que se pueden descomponer en otros módulos, como puede verse en la figura 1. Los elementos comunes de estos módulos son la lectura, escritura y la representación de las secuencias de datos. Uno de los principales objetivos que se tuvieron presente a la hora de desarrollar dicho módulo fue mantener el tamaño de éste lo más pequeño posible, por lo que no se añadirán clases al mismo que no estén estrechamente relacionadas con las proteínas o las secuencias de ADN. Las clases principales que componen el módulo del núcleo son `DNASequence`, `ProteinSequence` y `RNASequence`, y todas ellas extienden de una clase llamada `AbstractSequence`.

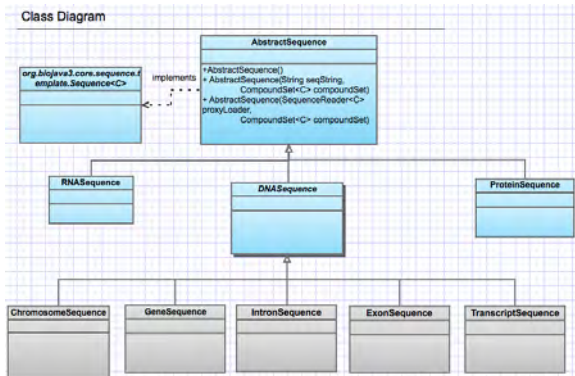


Fig. 1. Diagrama de Clases.

El diagrama de Clases muestra la estructura del módulo del núcleo de BioJava.

El módulo del núcleo está compuesto por una serie de clases que ayudan a simular procesos biológicos, como la transcripción del ADN. Recuerde que la transcripción del ADN es el primer proceso de la expresión génica, mediante el cual se transfiere la información contenida en la secuencia del ADN hacia la secuencia de proteína utilizando diversos ARN como intermediarios. Durante la transcripción genética, las secuencias de ADN son copiadas a ARN mediante una enzima llamada ARN polimerasa que sintetiza un ARN mensajero que mantiene la información de la secuencia del ADN. De esta manera, la transcripción del ADN también podría llamarse síntesis del ARN mensajero.

2.4.1. Enum Frame

Esta es una Clase del Framework de BioJava que se antoja necesaria para comprender cómo se lleva a cabo el proceso de transcripción del ADN. Indica la manera en la que se traduce una secuencia, y hay 6 formas distintas de conseguirlo: `one`, `two`, `three`, `reverse_one`, `reverse_two`, `reverse_three`.

```
public enum Frame extends Enum<Frame>
```

2.4.2. Traducción en el Frame 1; Deprisa y corriendo

El siguiente fragmento traduce una secuencia de ADN dada (generada por la Clase `DNASequence`) en un péptido usando codones:

```
ProteinSequence protein = new DNASequence("ATG").getRNASequence().getProteinSequence();
```

2.4.3. Traducción en un Frame distinto

La manera anterior era rápida pero llena de galimatías, ya que una característica común de la transcripción del ADN consiste en especificar la base en la que comenzamos la transcripción del ADN al ARN, que a su vez tiene un efecto sobre como convertir los ARN resultantes en una proteína. Para ello, el método `getRNASequence`, que devuelve la secuencia de ARN equivalente a una secuencia ADN, acepta que se pase un `Frame` como argumento, que indica la forma en la que se produce la traducción de la secuencia. Como vimos anteriormente, la clase `Enum frame` proporciona 6 formas en las que pueden ser dados al objeto ADN cuando solicitamos el ARN.

```
DNASequence dna = new DNASequence("ATG");
RNASequence rna = dna.getRNASequence(Frame.TWO);
ProteinSequence protein = rna.getProteinSequence();
```

Como podemos observar, aquí realizamos el mismo proceso biológico que en el apartado anterior, aunque en 3 pasos. En el primero instanciamos un objeto de la clase `DNASequence` con una secuencia dada. En el segundo, hacemos lo propio con un objeto de la clase `RNASequence`, pero indicando el `Frame` en el que se producirá la traducción, es decir, indicando la manera en la que se produce la traducción. En el tercer y último paso nos creamos un objeto de la clase `ProteinSequence` a través del método `getProteinSequence()` de la clase `RNASequence`.

2.4.4. Traducción en múltiples Frames: Clase `TranscriptionEngine`

La clase `TranscriptionEngine` es el motor de transcripción, es decir, define la forma en la que se produce el proceso de transcripción. El método `getDefault()` nos devuelve un objeto de esta clase para poder trabajar, aunque nosotros podemos construirla el nuestro propio.

Para hacer esto necesitamos un objeto de la clase `TranscriptionEngine`, aunque podemos trabajar con el objeto por defecto usando el método `getDefault()`, que crea una instancia para usar cuando transcribimos de ADN a ARN Proteína.

El método `getForwardFrames()` devuelve todos los frames (los seis que tenemos de la Clase Enum).

El método `multipleFrameTranslation()` es una manera de traducir el ADN en un número de frames. Acepta dos parámetros: el primero es la secuencia de ADN a traducir y el segundo es el frame con el que traduciremos, es decir, la manera por la cuál se producirá la transcripción, que en este caso es de todas las posibles. Devuelve todas las secuencias de proteínas generadas por los frames.

```
TranscriptionEngine te = TranscriptionEngine.getDefault();
Frame[] frames = Frame.getForwardFrames();
Map <Frame, Sequence<AminoAcidCompound>> results =
te.multipleFrameTranslation(dna, frames);
```

2.4.5. Usando nuestro propio objeto de `TranscriptionEngine`

Un objeto de la clase `TranscriptionEngine` es la esencia del proceso de transcripción, ya que nos permite crearnos nuestro propio motor de transcripción. Si queremos hacer algo fuera de lo normal, tenemos que construirnos uno personalizado. Para hacer esto, ejecutamos las siguientes líneas de código:

```
TranscriptionEngine.Builder b = new TranscriptionEngine.Builder();
b.table(11).initMet(true).trimStop(true);
TranscriptionEngine engine = b.build();
```

Ya tenemos nuestro propio motor de transcripción, por lo que podríamos proceder a la transcripción del ADN, en este caso usando nuestro motor de transcripción propio en vez de un `Frame`:

```
DNASequences dna = new DNASequences("ATG");
RNASequences rna = dna.getRNASequences(engine);
ProteinSequences protein = rna.getProteinSequences(engine);
```

3. CONCLUSIONES

El mundo de la Bioinformática se encuentra en pleno auge. El futuro desarrollo de ciencias como la medicina molecular va a necesitar de todas las tecnologías posibles como son la Biotecnología o la Bioinformática.

BioJava proporciona un potente framework para el tratamiento de datos y procesos biológicos. Ayuda a aclarar estos procesos a través de la simulación

de los mismos, además de crear gráficos, establecer una comunicación con el National Cancer Institute's Centre for Bioinformatics por medio de la utilización de web services (SOAP + http).

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece a todas aquellas personas que han contribuido a la elaboración de este artículo, especialmente al Dr. Norberto Díaz Díaz por la aportación de ideas y la atención prestada, y a Francisco Gómez Vela por la orientación brindada a la hora de redactar el artículo.

REFERENCIAS

- [1] Web de la revista Nature: <http://www.nature.com/nature/journal/v417/n6885/full/417119a.html>
- [2] Web de Oxford Journals: <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/28/20/2693>
- [3] Web de la página oficial del proyecto BioJava: <http://www.biojava.org>
- [4] Velankar,S. et al. (2005) E-MSD: an integrated data resource for bioinformatics. *Nucleic Acids Res.*, 33 (Database issue), D262–D265.
- [5] Stein,L.D. et al. (2002) The Generic Genome Browser: a building block for a model organism system database. *Genome Res.*, 12, 1599–1610.
- [6] Stajich,J.E. et al. (2002) The Bioperl toolkit: Perl modules for the life sciences. *Genome Res.*, 12, 1611–1618.
- [7] Bliven,S. and Prlc',A. (2012) Circular permutation in proteins. *PLoS Comput. Biol.*, 8, e1002445.
- [8] Cock,P.J.A. et al. (2009) Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics. *Bioinformatics*, 25, 1422–1423.
- [9] Cock,P.J.A. et al. (2010) The Sanger FASTQ file format for sequences with quality scores, and the Solexa/Illumina FASTQ variants. *Nucleic Acids Res.*, 38, 1767–1771.
- [10] Farriol-Mathis,N. et al. (2004) Annotation of post-translational modifications in the Swiss-Prot knowledge base. *Proteomics*, 4, 1537–1550.
- [11] Finn,R.D. et al. (2011) HMMER web server: interactive sequence similarity searching. *Nucleic Acids Res.*, 39 (Web Server issue), W29–W37.
- [12] Garavelli,J.S. (2004) The RESID Database of Protein Modifications as a resource and annotation tool. *Proteomics*, 4, 1527–1533.
- [13] Goto,N. et al. (2010) BioRuby: bioinformatics software for the Ruby programming language. *Bioinformatics*, 26, 2617–2619.
- [14] Guan,X. and Uberbacher,E.C. (1996) Alignments of DNA and protein sequences containing frameshift errors. *Comput. Appl. Biosci.* 12, 31–40.



Abel Cuevas Moreno recibió el título de Administrador de Sistemas Informáticos por SAFA Nuestra Señora de los Reyes en 2009, y actualmente se encuentra cursando el tercer curso de la titulación de Grado en Ingeniería Informática de Sistemas de Información por la Universidad Pablo de Olavide, donde es alumno interno del profesor doctor Raúl Giraldez Rojo. En 2013 entra a formar parte del Computer Science Club de Oracle Academy en donde se formará para la certificación de Administración de Bases de Datos 11g de Oracle.

Introducción a BioWeka

Daniel Jurado Fernández

Resumen—Los métodos de minería de datos siempre han estado fuertemente ligados a las tareas de investigación en bioinformática, aplicándose el uso de algoritmos para la agrupación de genes o clasificación de secuencias biológicas. Es por ello que, sobre todo en los últimos años, se ha ido incrementando de forma exponencial el uso de técnicas de minería de datos con aplicaciones en la bioinformática. Herramientas como Weka, diseñadas para el análisis masivo de datos, han sido extendidas.

BioWeka es una extensión de la herramienta Weka, que da un valor añadido a dicha herramienta a la hora de aplicar procesos y técnicas de minería de datos sobre datos puramente biológicos (p. e. en el tratamiento de datos de expresión génica).

Palabras Clave—Bioinformática, BioWeka, Data and Text Mining, Minería de Datos, Weka

1. INTRODUCCIÓN

El proyecto BioWeka nació en Agosto de 2005 como una herramienta de software libre para la comunidad Weka / Bioinformática y fué realizado por la Universidad Ludwig-Maximilians-Universität, Munich (www.bio.ifi.lmu.de).

BioWeka ofrece componentes que frecuentemente se utilizan en proyectos de investigación biológica o que han demostrado producir resultados deseables en el proceso KDD (Knowledge Discovery Database).

Aporta diferentes funcionalidades como la posibilidad de realizar cargas de datos con formatos de archivos usados con frecuencia en bioinformática o ficheros XML personalizados. Realizar tareas de clasificación y agrupamiento en los datos de expresión génica utilizando componentes de Weka. los filtros añadidos para la manipulación de los datos. Todas estas extensiones de BioWeka se pueden apreciar en la Figura 1 en color gris claro.

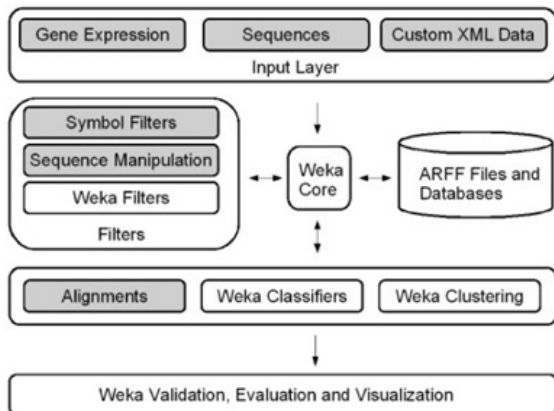


Figura 1. Vista general de componentes BioWeka [1]

2. DESCRIPCIÓN GENERAL DE BIOWEKA

2.1. ¿Qué es Weka?

Weka es una herramienta de minería de datos implementada en Java, usada en el análisis de datos, entre los que se encuentran aquellos que son materia de estudio en bioinformática. Ofrece muchos métodos de clasificación (SVM's, árboles de decisión, etc) y de agrupamiento. Proporciona diferentes técnicas de aprendizaje, tanto supervisado como no supervisado, así como técnicas de preprocesado (editado y selección de atributos). Estas características, además de que es gratuita, son las que han hecho que investigadores la use para analizar todo tipo de datos. Además permite la visualización y evaluación estadística de los resultados obtenidos.

Weka utiliza un formato especial de ficheros (con extensión ARFF) para importar los datos a analizar. Este formato de fichero tiene una limitación y es que sólo permite una relación por archivo, es decir, no es posible procesar los datos que tengan múltiples relaciones en Weka. La única forma que tiene Weka de consultar grandes cantidades de datos relacionados es a través de conexiones con bases de datos relacionales y utilizando el lenguaje de consulta SQL.

2.2. ¿Y qué es BioWeka?

Dado que los datos biológicos pueden aparecer en una gran cantidad de formatos diferentes, BioWeka provee al usuario de una herramienta de conversión de formatos muy conocidos en ARFF (y viceversa para algunos formatos).

Como por ejemplo para datos de expresión génica (MAGE-ML) o almacenamiento de secuencias biológicas (FASTA). Además los usuarios pueden extender fácilmente mediante la adición de BioWeka sus propios convertidores. Formatos XML personalizados también se pueden incorporar

a BioWeka usando hojas de estilo XSL. BioWeka contiene nuevos filtros (en Weka, los filtros son las clases que modifican un conjunto de datos) para la manipulación de secuencias. Las operaciones de agrupación sobre datos de tipo cadenas no son frecuentes, especialmente en Weka. Por lo tanto un funcionalidad de BioWeka es que proporciona filtros que extraen características numéricas o nominales a partir de secuencias. Para ello se utilizan dos métodos, uno es el análisis de las propiedades de la secuencia mediante la inspección de aminoácidos o de ácidos nucleicos. El otro método es el conteo de símbolos individuales o grupos de símbolos (por ejemplo, codones) de una secuencia.

2.3. Licencia de uso

BioWeka al estar desarrollado en lenguaje de programación Java y distribuirse bajo la Licencia Pública General GNU se asegura que todas las contribuciones hechas son aportaciones libres realizadas por la comunidad contributiva. Los nuevos componentes se pueden desarrollar y adaptar sobre las clases ya existentes de BioWeka.

Pero a pesar de estar bajo licencia GNU, la evolución de BioWeka no se puede decir que haya sido continuada y adaptada a las plataformas tecnológicas actuales, ya que las últimas versiones fueron desarrolladas en 2006-2007 (recordamos que BioWeka nació en 2005). La web donde estaba publicada en origen (www.bioweka.org) comenzó a sufrir cambios hasta llegar integrarse dentro de la plataforma SourceForge que es una central de desarrollos de software que controla y gestiona varios proyectos de software libre y actúa como un repositorio de código fuente. En dicho repositorio la documentación se puede considerar escasa y desactualizada, cuenta con un apartado de ayuda donde las cuestiones o problemas apenas tienen respuesta, o si las hay, en pocos casos llegan a ser satisfactorias. Como consecuencia se podría decir que BioWeka no es una herramienta de fácil distribución y puesta en marcha para aquellas personas con escasos conocimientos informáticos. Esto puede llegar a hacer que algunas personas relacionadas con la investigación y que necesiten de alguna herramienta para el tratamiento y/o análisis de datos biológicos se decanten por una de las muchas otras herramientas que existen hoy en día.

2.4. ¿Cómo usar BioWeka?

Para poder utilizar BioWeka lo primero que hay que descargar es la herramienta Weka (<http://www.cs.waikato.ac.nz/ml/weka>) en la versión del S. O. que se vaya a utilizar (Linux, Windows

XP, Windows 7, Mac OS X) e instalarla. A continuación habrá que descargar la distribución BioWeka (<http://sourceforge.net/projects/bioweka/files>).

La última versión disponible es la 0.7.0, aunque parece ser que la más utilizada es la 0.6.1 dado que es una versión más estable. El fichero BioWeka.zip que se ha descargado es un fichero en formato comprimido que habrá que descomprimir en el directorio donde se vaya a tener localizada la herramienta. En principio el lugar de localización es indiferente.

Una vez realizados los pasos anteriores hay dos formas de instalar BioWeka. La primera es añadir la ruta donde se encuentra el fichero JAR de Weka en la variable CLASSPATH para BioWeka. Hay que modificar el script de inicio de BioWeka (para S.O. Windows es el fichero BioWeka.bat y para S.O. Linux bioweka.sh) y añadir la ruta de instalación de Weka en la variable CLASSPATH. En la figura 2 podemos ver un ejemplo de un fichero ya modificado. La otra forma de instalar BioWeka es que una vez se instale la distribución de Weka correspondiente, en su directorio de instalación debe aparecer un fichero llamado weka.jar, este fichero habrá que copiarlo en el directorio lib de la distribución BioWeka que se haya descargado.

```

set BIOWEKA_HOME=.
set BIOWEKA_RAM=512

setlocal EnableDelayedExpansion
set BIOWEKA_CLASSPATH=%CLASSPATH%;C:\Program Files\Weka-3-6\weka.jar
for %%i in ("%BIOWEKA_HOME%\lib\*.jar") do set BIOWEKA_CLASSPATH=%BIOWEKA_CLASSPATH%;%%i
echo %set BIOWEKA_CLASSPATH=%BIOWEKA_CLASSPATH% > %TEMP%\SetClasspath.cmd
endlocal
call %TEMP%\SetClasspath.cmd
del %TEMP%\SetClasspath.cmd

if not "%1"=="%" goto Explorer
%*% -Nmx%BIOWEKA_RAMM -cp "%BIOWEKA_CLASSPATH%" weka.gui.GUIChooser
goto Exit
:Explorer
%*% -Nmx%BIOWEKA_RAMM -cp "%BIOWEKA_CLASSPATH%" weka.gui.explorer.Explorer %1
:Exit

```

Figura 2. Script de inicio BioWeka

Una vez completado el proceso de instalación de BioWeka, las nuevas funcionalidades que nos ofrece son accesibles directamente desde la interfaz gráfica Explorer de Weka. El mismo script de inicio de BioWeka ya proporciona acceso a Weka así como a BioWeka

3. APLICACIONES EN LA BIOINFORMÁTICA

Ya se ha comentado la importancia que tienen los métodos de minería de datos para el KDD ya que su aplicación se hace indispensable en multitud de tareas relacionadas con el análisis de datos ómicos. A continuación se describen dos de los casos de uso que se podrían considerar más habituales. Uno de ellos es la clasificación de ADN, ARN o secuencias de aminoácidos de acuerdo con su

función dentro de un organismo o a su descendencia. Y otra de ellas es la agrupación de datos de expresión génica para encontrar genes co-regulados.

3.1. Clasificación de secuencias

La clasificación de datos de secuencias es una de las tareas más comunes en biología computacional, ya que una gran cantidad de datos en la biología son secuencias. Se puede tratar de secuencias de ADN, ARN, aminoácidos u otros elementos de estructura secundaria. El procedimiento a aplicar es siempre el mismo, es decir, a partir de un conjunto de casos con dos atributos que son la secuencia y un valor nominal de clase y para estos casos hay que encontrar una función que se asigna cada secuencia de la clase asociada. Estas secuencias se pueden clasificar por:

- **Localización:** El valor de la clase indica la localización de una proteína. En este caso los métodos de minería de datos se utilizan, por ejemplo, para distinguir entre las que son proteínas intramembranas y las que no lo son.
- **Función:** Tanto los genes como las proteínas, tienen diferentes funciones. Estas funciones se pueden utilizar para clasificarlos. Una tarea común es, por ejemplo, para encontrar genes que actúan en la regulación del ciclo celular .
- **Estructura:** La clasificación de estructuras es importante para el tratamiento de datos de las proteínas. Este tratamiento de datos puede llegar a tener su grado de complejidad en función del número de niveles jerárquicos se vayan a tratar (p. e. superfamilia-familia-proteína).
- **Especies:** A veces es necesario para distinguir entre las diferentes especies en experimentos de expresión génica.

3.2. Agrupación de datos de expresión génica

Otro de los usos más habituales que podemos dar a BioWeka es el tratamiento, análisis y agrupación de datos de expresión génica, en los que se observan docenas o incluso cientos de genes diferentes con respecto a su nivel de expresión bajo diferentes circunstancias, como puede ser por ejemplo en diferentes fases celulares. Para llevar a cabo estos estudios se utilizan los llamados microarrays, que no son más que varios chips puestos en forma de matriz a los que se les han manchado oligonucleótidos cortos indicando su nivel de expresión. En dicha matriz, las filas representan los genes en cuestión y las columnas los niveles de expresión en diferentes condiciones, o viceversa. Para encontrar subconjuntos de genes

co-regulados, se utilizan técnicas de aprendizaje automático, entre los que se destacan las técnicas de agrupación.

4. CONCLUSIONES

Podemos decir que BioWeka, para el personal que esté acostumbrado a trabajar con Weka, cumple con su objetivo y hace que sea fácil de utilizar un número de formatos de datos que son más relevantes para la bioinformática haciendo uso de la herramienta Weka. Además, al estar bajo licencia GNU, los desarrolladores de software tienen la posibilidad de hacer uso de BioWeka y de sus clases e interfaces para crear nuevos prototipos. También tienen la posibilidad de probar nuevos algoritmos de clasificación o agrupación e ir realizando aportaciones a la comunidad que puedan ser de utilidad en diversos ámbitos en los que el tratamiento y análisis de grandes cantidades de datos biológicos sea parte fundamental del estudio. Aunque como ya se comentó en una de las secciones de este artículo las aportaciones a BioWeka en los últimos años son escasas.

REFERENCIAS

- [1] D.S. Coming and O.G. Staadt, "BioWeka-extending the Weka framework for bioinformatics", vol.23, no.5, pp. 651-653,2007, doi:10.1093/bioinformatics/btl671.
- [2] Paul T Spellman, Michael Miller, Jason Stewart, Charles Troup, Ugis Sarkans, Steve Chervitz, Derek Bernhart, Gavin Sherlock, Catherine Ball, Marc Lepage, Marcin Swiatek, W L Marks, Jason Goncalves, Scott Markel, Daniel Jordan, Mohammadreza Shojatalab, Angel Pizarro, Joe White, Robert Hubley, Eric Deutsch, Martin Senger, Bruce J Aronow, Alan Robinson, Doug Bassett, Christian J Jr Stoeckert, and Alvis Brazma. "Design and implementation of microarray gene expression markup language (MAGE-ML)". *Genome Biol*, 3(9):RESEARCH0046, Aug 2002.
- [3] S F Altschul, T L Madden, A A Schaffer, J Zhang, Z Zhang, W Miller, and D J Lipman. "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs". *Nucleic Acids Res*, 25(17):3389-3402, Sep 1997.
- [4] M. Szugat, "Bachelor Thesis in Bioinformatics; BioWeka: Extending the Weka framework for Bioinformatics". Institut für Informatik Lehr- und Forschungseinheit Bioinformatik, Oct 2005.



Daniel Jurado Fernández estudiante de Grado en Ingeniería Informática de Sistemas de Información en la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

Problemática en la elección del número de cluster en el algoritmo K-Means

Alfonso Muñoz Baena

Resumen—El problema a tratar sería sobre la necesidad de definir previamente los parámetros arbitrarios como el número de cluster K, implicando a forzar a cada gen a estar contenido en un cluster a pesar de tener una baja correlación con otros miembros del cluster. Para ello se propone una adaptación basada en la calidad del método de agrupación a partir de los principios descritos por Heyer, concretamente se basan en el algoritmo de cluster global Adap Cluster.

Palabras Clave—Adap Cluster, K-Means, Heyer, K, Cluster.

1. INTRODUCCIÓN

En este documento se expondrá una de las posibles soluciones que presenta la elección del número de cluster K en los que dividir los diferentes genes de un microarray.

Abril, 2013

1.1. Definición de Conceptos

Un algoritmo de agrupamiento (en inglés, clustering) es un procedimiento de agrupación de una serie de vectores de acuerdo con un criterio. Esos criterios son por lo general distancia o similitud. La cercanía se define en términos de una determinada función de distancia, como la euclídea, aunque existen otras más robustas o que permiten extenderla a variables discretas. Existen dos grandes técnicas para el agrupamiento de casos:

- Agrupamiento jerárquico, cuando no conocemos cuántos grupos hay, que puede ser aglomerativo o divisivo.
- Agrupamiento no jerárquico, cuando conocemos cuántos grupos hay, en los que el número de grupos se determina de antemano y las observaciones se van asignando a los grupos en función de su cercanía. Como los métodos de K-Mean y K-Mediod.

Existen diversas implementaciones de algoritmos concretos. Por ejemplo, el de las K-Medias, de particionamiento. Éste supone que el número de cluster K es conocido y consiste en minimizar las distancias entre los elementos y el centroide del cluster al que pertenecen.

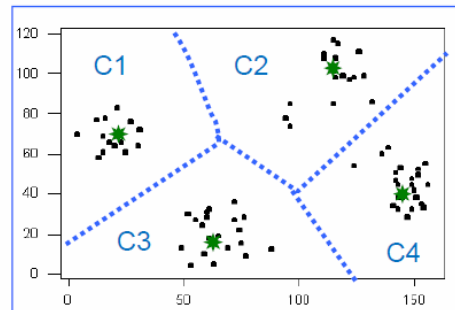


Figura 1. Particionamiento en diferentes cluster

1.1.1. Características de K-Means

Las dos características claves del K-Means, las que lo hacen eficiente vienen a convertirse en su principal problema:

- La distancia euclídea se usa como una métrica y la varianza es usada como una medida de la dispersión de los grupos.
- El número de grupos K es un parámetro de entrada: una elección inapropiada puede acarrear malos resultados. Por eso es muy importante cuando corremos el K-Means tener en cuenta la importancia de determinar el número de grupos para un conjunto de datos.
- La convergencia a óptimos locales puede traer malos resultados.

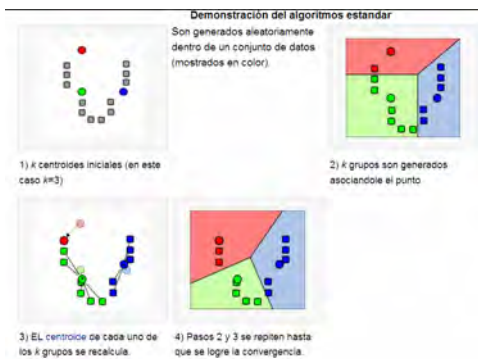
1.1.2. Limitaciones/Imperfecciones de K-Means

Una limitación clave del K-Means es su modelo de agrupamiento. El concepto se basa en grupos esféricos que son separables de una forma en que el valor de la media converge hacia el centro del cluster. Se espera que los clusters tengan igual tamaño, por lo que la asignación al cluster más cercano es la

asignación correcta.

Es uno de los más antiguos pero de uso extendido a pesar de sus carencias y falta de robustez. Algunas de esas carencias son, que presenta diferentes inconvenientes como algoritmo de clustering genético.

1. El número de clusters no suele conocerse a priori. Para detectar el número óptimo de éstos, el algoritmo deberá ser ejecutado repetidamente con diferentes valores de K, comparando los resultados obtenidos.



2. Los datos de expresión genética suelen contener una enorme cantidad de ruido; sin embargo, K-Means fuerza a cada gen a ser incorporado en un cluster, lo cual hace que el algoritmo sea sensible al ruido. Para solventar esta problemática se han presentado diferentes estudios de los cuales suelen usar algún parámetro global para controlar la calidad de los clusters resultantes (e.g., el radio máximo de un cluster y/o la distancia mínima entre clusters).

1.2. Problema a tratar

El problema a tratar sería sobre la necesidad de definir previamente los parámetros arbitrarios como el número de grupos implicando a forzar a cada gen a estar contenido en grupo a pesar de tener una baja correlación con otros miembros del clúster. Para ello se propone el algoritmo Adap Cluster. Consta de dos pasos:

1. El primer paso sería la localización del cluster (basada en la calidad de aproximación).
2. El segundo paso deriva de la calidad del cluster obtenido de los datos del paso anterior.

```

Adap_Cluster
(G = {gi, i = 1, ..., N}, MIN_NR_GENES <2>, S<0.95>)
ACCUR_RAD = 0.1 /* Set internal tuning parameter */
Initialize RK_PRELIM /* Radius estimate initialization */
WHILE Stop criterion NOT TRUE
  CK = locate_cluster_center (G, RK_PRELIM)
  /* Localization of a cluster center - Step 1 */
  RK = recalculate_radius (G, CK, RK_PRELIM, S)
  /* Re-estimation of radius - Step 2 */
  IF ((|RK - RK_PRELIM|/RK_PRELIM) < ACCUR_RAD)
    /* Check accuracy of radius estimation */
    CLUSTER = {g ∈ G | ||gi - CK|| < RK}
    G = G \ CLUSTER /* Remove cluster from data set G */
    IF #CLUSTER >= MIN_NR_GENES /* Valid cluster ? */
      Output CLUSTER
    END IF
  END IF
  RK_PRELIM = RK /* Update radius estimate */
END WHILE
  
```

Figura 2. Algoritmo Adap Cluster

1.2.1. Localización de un grupo de calidad basado en el centro de agrupamiento

Dada una colección G de perfiles de expresión genética, el objetivo de la etapa 1 consiste en encontrar el centro del cluster en el área del conjunto de datos, donde la "densidad" de perfiles de expresión dentro de una esfera con un radio igual a la calidad o RK Prelim (estimación preliminar del radio), es localmente máxima.

$$R_{K_PRELIM} = \frac{\sqrt{E-1}}{2}$$

Donde E es la dimensión de los vectores de los genes de expresión.

El método se basa en los principios utilizados por Heyer pero es significativamente más rápido. La desventaja con el enfoque de Heyer es que la calidad o el radio de los grupos es un parámetro que no es muy intuitivo. Además, todos los grupos se ven obligados a tener el mismo radio.

1.2.2. Re-estimación o la adaptación de la calidad del grupo

En el párrafo anterior se localiza un cluster central C en la colección de perfiles de expresión genética G, utilizando una estimación preliminar 'A' del radio de agrupación RK Prelim. El objetivo del método que se definirá en este párrafo es, dado el centro del cluster que permanece fijo, recalcular el radio RK Prelim del cluster actual con los valores significativamente co-expresados de aquellos genes que pertenecen a este grupo. En primer lugar, se calcula la distancia 'r' euclídea para cada vector de expresión del conjunto de datos en el cluster central C. Imagina hacer lo mismo para cada vector con datos aleatorios. La

distribución de estas distancias en los datos originales consta de dos partes:

1. Background: estos son los perfiles de expresión con una distancia al centro del cluster que están significativamente presentes en la distancia con el conjunto de datos al azar. Los genes pertenecientes a otros cluster no se mostrarán en la distribución para calcular el centro del cluster actual.
2. Cluster: los genes pertenecientes al cluster son significativamente co-expresados.

Tenga en cuenta que la estructura del modelo supone que la medida de distancia utilizada para 'r' es la distancia euclídea. Esto significa que nuestro método no puede ser extrapolado a otras medidas.

1.2.3. Parada del criterio

La iteración (bucle WHILE) en el algoritmo general termina cuando el criterio de parada se cumple. Este caso se cumple cuando sigue una de estas tres condiciones:

- Paso 1 o Paso 2 convergen.
- Si, para un grupo específico, el número de iteraciones necesarias para disminuir la diferencia entre RK y RK Prelim, es mayor que un número predefinido.
- Si los datos de los cluster eliminados no son válidos.

2. CONCLUSIONES

El algoritmo propuesto en [14] está diseñado para encontrar grupos de genes que estén altamente relacionados en áreas de alta densidad de datos.

El método se basa en los principios utilizados por Heyer pero es significativamente más rápido. La desventaja con el enfoque de Heyer es que la calidad o el radio de los grupos es un parámetro que no es muy intuitivo. Además, todos los grupos se ven obligados a tener el mismo radio.

En conclusión, Adap Cluster puede ser considerado como un algoritmo muy intuitivo, fácil de usar (sin necesidad de definir previamente el número de Cluster en los que subdividir) y un algoritmo de clustering rápido.

3. AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a la Universidad Pablo de Olavide y al coordinador de la asignatura por la oportunidad que se me ha dado y también dedicárselo a mis padres por todo el apoyo recibido hasta el momento, tanto económicamente como emocionalmente.

REFERENCIAS

- [1] Ben-Dor,A., Shamir,R. and Yakhini,Z (1999) Clustering gene expression patterns. J. Comput. Biol. , 6 , 281-297.
- [2] Bishop,CM (1995) Neural Networks for pattern recognition . Oxford University Press, New York.
- [3] Bittner,M., Meltzer,P., Chen,Y., Jiang,Y., Seftor,E., Hendrix,M., Radmacher,M., Simon,R., Yakhini,Z., Ben-Dor,A., Samps,N., Dougherty,E., Wang,E., Marincola,F., Gooden,C., Lueders,J., Glatfelter,A., Pollock,P., Carpten,J., Gillanders,E., Leja,D., Dietrich,K., Beaudry,C., Berens,M., Alberts,D. and Sondak,V. (2000) Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling. Nature , 406 , 536-540.
- [4] Carr,DB, Somogyi,R. and Michaels,G. (1997) Templates for looking at gene expression clustering. Statistical Computing and Statistical Graphics Newsletter , 8 , 20-29.
- [5] Cho,RJ, Campbell,MJ, Winzeler,EA, Steinmetz,L., Wodicka,L., Wolfsberg,TG, Gabrielian,AE, Landsman,D., Lockhart,DJ and Davis,RW (1998) A genome wide transcriptional analysis of the mitotic cell cycle. Mol. Cell , 2 , 65-73.
- [6] DeRisi,JL, Iyer,VR and Brown,PO (1997) Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale. Science , 278 , 680-686.
- [7] Eisen,MB, Spellman,PT, Brown,PO and Botstein,D. (1998) Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. Proc. Natl Acad. Sci. USA , 95 , 14863-14868.
- [8] Hastie,T., Tibshirani,R., Eisen,MB, Alizadeh,A., Levy,R., Staudt,L., Chan,WC, Botstein,D. and Brown,P. (2000) 'Gene shaving' as a method for identifying distinct sets of genes with similar expression patterns. Genome Biol. , 1 , research0003.1-0003.21.
- [9] Herrero,J., Valencia,A. and Dopazo,J. (2001) A hierarchical unsupervised growing neural network for clustering gene expression patterns. Bioinformatics , 17 , 126-136.
- [10] Heyer,LJ, Kruglyak,S. and Yooseph,S. (1999) Exploring expression data: identification and analysis of coexpressed genes. Genome Res. , 9 , 1106-1115.
- [11] Jakt,LM, Cao,L., Cheah,KS and Smith,DK (2001) Assessing clusters and motifs from gene expression data. Genome Res. , 11 , 112-123
- [12] Kaufman,L. and Rousseeuw,PJ (1990) Finding Groups in Data: an Introduction to Cluster Analysis . Wiley, New York.Lander,ES (1999) Array of hope. Nature Genet. , 21 , 3-4.
- [13] Lukashin,AV and Fuchs,R. (2001) Analysis of temporal gene expression profiles: clustering by simulated annealing and determining the optimal number of clusters. Bioinformatics , 17 , 405- 414.
- [14] <http://www.upo.es/eps/ndiaz/downloads/ThesisNorbertoDiazDiaz.pdf>



Alfonso Muñoz Baena estudiante de Grado en Ingeniería Informática de Sistemas de Información en la Universidad Pablo de Olavide, cursando actualmente la asignatura de Bioinformática. Residente en Estepa, Sevilla.

Qué son y para qué se utilizan los BioChips

Antonio Galicia de Castro

Resumen—La necesidad de conseguir un estudio simultáneo de la expresión de cientos de genes llevó a la creación de técnicas que permitieran disponer de una gran densidad de sondas colocadas en un área pequeña [1]. Además era necesario automatizar el proceso de análisis y realizarlo de una forma más rápida y barata. Cubriendo estas necesidades los biochips son utilizados para el estudio genético.

Palabras Clave—Análisis de expresión, Análisis del transcriptoma, BioChip, BioInformática, MicroArray.

1. INTRODUCCIÓN

El uso de chips de ADN para estudiar la expresión de diversos genes fue publicado en 1995 por Stanford University Medical Center, en la revista científica Science [5]. Un BioChip o MicroArray es una superficie sólida con muchas sondas, a la que unimos a un tejido o solución con fragmentos de ADN. Las superficies empleadas para fijar el ADN pueden ser de vidrio, plástico o de silicio. Con ellos podemos analizar la expresión de genes, monitorizándose los niveles de miles de fragmentos de ADN de forma simultánea.

Los GeneChips son los MicroArrays producidos por Affymetrix, que es una de las compañías líderes en la fabricación de BioChips. Algunos de sus chips estudian genomas completos utilizando más de 50.000 sondas.
Abril, 2013

2. GENERACIÓN DE UN BIOCHIP

Los científicos se refieren al estudio de la expresión de genes como “análisis de expresión” o “análisis del transcriptoma”. Se suele retrotranscribir el ARN a ADN para estos casos, de manera que lo que usamos como muestra para las sondas es ADNc.

A partir de cualquier célula se puede obtener el ADN completo de un individuo. De éste se extrae el ADN mensajero que se integrará en el Biochip. Como se muestra en la Figura 1, para medir el nivel de expresión entre la sonda específica y la molécula diana se deposita en la sonda un juego de ADNc codificados. Después se eliminan todas las cadenas que no se han unido mediante lavados (sólo las moléculas que hibridan permanecerán en el biochip), y se procede al revelado mediante un escáner óptico [1].

Antonio Galicia de Castro, para la asignatura de BioInformática en la Escuela Politécnica Superior, Universidad Pablo de Olavide. Dirigido por Norberto Díaz-Díaz

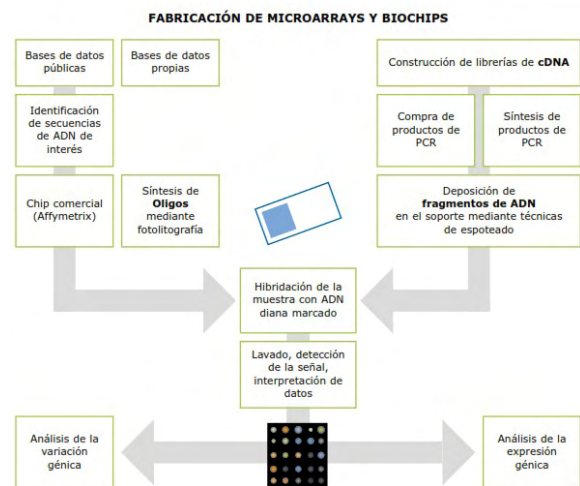


Figura 1. Imagen extraída de [4]

Para identificar genes con una expresión diferente bajo condiciones distintas se utilizan los análisis de expresión. Estos análisis se realizan desde dos perspectivas. En primer lugar podemos estudiar a un individuo concreto, comparándolo con una muestra controlada, para detectar anomalías frente a individuos sanos. Otro enfoque es para el estudio de un gen concreto, realizando una comparación con una batería del mismo gen, normalmente para conocer la función del gen estudiado. Esta batería de genes para comparar se obtiene de diferentes individuos, o del mismo individuo a lo largo del tiempo.

Los análisis de expresión generan un gran número de datos a ser valorados, que son contrastados con información ya conocida de otros análisis para comprobar la coherencia de las conclusiones obtenidas tras la prueba. Por lo tanto, se necesita un sistema para almacenar los datos y potentes herramientas de análisis. Con los años, los datos generados, existentes en grandes bases de datos genómica crecen de forma exponencial.

3. ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GENÉTICA

Los experimentos MicroArrays no son perfectos ya que los datos resultantes no son exactos y tienen una gran cantidad de ruido. El primer paso en el análisis de estos datos se denomina análisis a bajo nivel y consiste en reducir el ruido producido en el proceso experimental a través de análisis de normalización de los datos, y manejos de valores omisos.

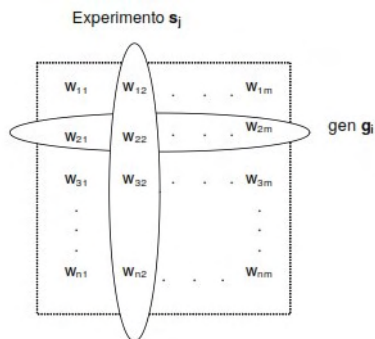


Figura 2. Imagen extraída de [1]

El análisis a bajo nivel transforma la matriz de datos original a una nueva matriz denominada matriz de expresión. Esta nueva matriz contiene el conjunto de datos de expresión genética provenientes de un MicroArray. Según la Figura 2, los datos son representados por valores reales en m filas y n columnas, donde las filas representan a los genes y las columnas representan las distintas condiciones para cada gen. Cada celda W_{nm} contiene el nivel de expresión medido para el gen y la condición correspondiente [1].

4. NUEVAS APROXIMACIONES

La tecnología MicroArray es una de las diferentes aproximaciones al análisis comparativo de patrones de expresión de genes. Una vez obtenida la matriz de expresión, la información es catalogada. Es cuando entra en juego la informática, y más en particular la Bioinformática, para procesar dichos datos. El conocimiento acumulado en los últimos años es necesario para entender el significado biológico de la información que se obtiene de los genes.

El avance de la tecnología se ha producido bajo tres factores importantes de escala: la fiabilidad, la sensibilidad y la integración. [4]

En la tendencia de mejorar la fiabilidad aparecen los BioElectroChips, que permiten al cliente diseñar el propio chip, ya que puede reutilizarse y cambiar las secuencias de las muestras. Esto proporciona un ahorro de consumibles y una mayor rapidez en las pruebas, además de una mayor precisión.

Con la tendencia de aumentar la sensibilidad tenemos los PNAs (Peptide Nucleic Acid), que están dirigidos a pruebas frente a proteasas y nucleasas, pues son más estables y producen una señal mayor.

Por último encontramos los dispositivos microfluídicos o LOAC (Lab-On-A-Chip), que emplean campos eléctricos –no confundir con los BioElectroChips– para mover líquidos o partículas como moléculas o células a través de unos microcapilares. El chip contiene un conjunto de microcámaras donde tienen lugar las reacciones que permiten el análisis de la muestra.

Estos avances tecnológicos nos han facilitado otra aproximación al análisis de expresión de genes denominado RNA-Seq, donde la utilización de tecnología punta para la secuenciación de transcriptomas nos permite obtener un mejor análisis e información del comportamiento de los ciclos celulares [2]. Mientras que los BioChips cubren sólo en torno a un 20 % del gen en cada medición, RNA-Seq cubre el transcriptoma completo, capturando todos los datos biológicamente relevantes [6].

Gracias a la eficacia, reproducibilidad y rendimiento de las plataformas de secuenciación de última generación, la técnica de RNA-Seq proporciona a los investigadores una forma eficiente de medir niveles de expresión génica [3].

AGRADECIMIENTOS

A Norberto Díaz-Díaz por facilitarme el acceso y utilización de su Tesis; y a Francisco Gómez-Vela por sus orientaciones y apoyo constante.

REFERENCIAS

- [1] Norberto Díaz-Díaz, *Similitud Funcional de Genes basada en Conocimiento Biológico*. Thesis Doctoral, 2012.
- [2] GibbsLab (<http://gibbslab.blogspot.com.es/2011/03/rna-seq-ja.html>)
- [3] Sistemas Genómicos (https://www.sistemasgenomicos.com/web_sg/web/areas-bioinformatica1.php)
- [4] Genoma España, *MicroArrays y BioChips de ADN*.
- [5] The National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7569999>)
- [6] Illumina, *MicroArrays y BioChips de ADN*.



Antonio Galicia de Castro, estudiante de 3º de Grado en Ingeniería Informática en Sistemas de Información en la Universidad Pablo de Olavide.

Algoritmos de agrupamiento basados en grafos

Iván Cabello León

Resumen—El estudio de microarrays puede representar tal cantidad de datos que su traducción sigue siendo una tarea de enormes proporciones. Es por eso que la utilización de los algoritmos de agrupamiento son realmente atractivos debido a su simplicidad, su éxito en el análisis, su capacidad para abarcar una amplia gama de funciones biológicas con alta precisión y su modo de representación.

El algoritmo NNN es el más simple de todos siendo rápido, preciso y trabaja bien para un conjunto de datos reducidos. MST (árboles de expansión mínimos) se basa en la simple estructura de un árbol para facilitar eficientes implementaciones de algoritmos de clustering que de otro modo serían computacionalmente difíciles de calcular. Por último, SPICi es el mejor algoritmo debido a su rapidez y eficiencia garantizando un tiempo de ejecución muy rápido en redes biológicas densas.

Palabras Clave—NNN, clustering, algoritmos, MST, SPICi.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, los esfuerzos de investigación están mucho más centrados en el análisis de microarrays con el fin de obtener pistas sobre la organización y el funcionamiento celular. Los algoritmos de agrupamiento basados en grafos es tal vez el enfoque más común para este tipo de análisis, por lo que a continuación se presentan tres algoritmos que usan esta técnica. Por un lado, los algoritmos NNN y MST agrupan genes con similares perfiles de expresión desde un grafo generado a través de un microarray, mientras que, por otro lado, SPICi es un algoritmo que actúa en grafos ya dados. En esta evaluación explicaremos el funcionamiento de los algoritmos y los compararemos, concluyendo cual es el mejor de los tres.

Mayo, 2013

2. TÉCNICAS DE AGRUPACIÓN

2.1. Algoritmo NNN

Este algoritmo fue desarrollado por Huttenhower y su equipo [3] y se inspira en el enfoque adoptado por Stuart donde intentan definir los homólogos de un gen específico en múltiples especies [1]. En dicho enfoque, se habla sobre la agrupación de patrones de genes en una red de interacción (sin agrupaciones) utilizando una medición de similitud global bajo muchas condiciones de microarrays diversos. En cambio, el algoritmo de agrupamiento NNN comienza con una red de interacción definida por un estándar de similitud de medida (como el coeficiente de correlación de Pearson o la distancia euclídea entre los vectores de expresión de dos genes) y encuentra grupos extrayendo información sobre los nodos más cercanos.

El algoritmo NNN recibe como entrada un conjunto de genes de tamaño m , una medida de similitud $d(g1,g2)$, un tamaño de clique g (subgrafo en que cada vértice está conectado a cada otro vértice del grafo) y un tamaño de vecindad n . Como salida obtenemos una asignación de cada gen a cero o más clusters.

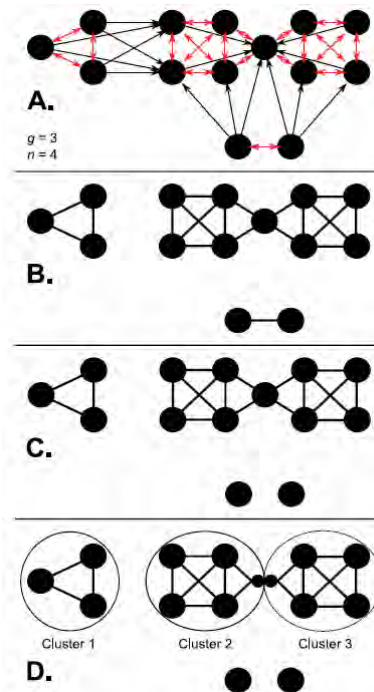


Figura 1.

En el ejemplo de la figura 1, tenemos 14 genes con un tamaño de clique $g = 3$ y un tamaño de vecindad $n = 4$. En el apartado A, se genera un grafo dirigido en que cada gen se conecta a su n más cercana. En el apartado B, se construye un grafo no dirigido de conexiones bidireccionales. En el apartado

C, los cliques de tamaño g se combinan para producir redes preliminares. Finalmente, en el apartado D, las redes preliminares contienen vértices de corte, que al cortarse, producen las redes finales. Para garantizar el resultado y ver que los nodos no se han fusionado indeseablemente, cualquier red (como máximo una) si contiene más de la mitad de los genes de entrada se elimina.

2.2. Algoritmos de clustering basados en MST

En la investigación de Ying Xu y su equipo se desarrolló un framework llamado MST que consiste en agrupar datos usando árboles de expansión mínimos, un concepto de la teoría de grafos. MST se basa en los algoritmos de Kruskal y Prim, por lo que ahora los clusters se convierten en sub-árboles del MST (todo el problema de clustering se reduce a un problema de partición del árbol). Según esta teoría, los diferentes problemas de clustering necesitaban diferentes funciones objetivos con el fin de lograr mejores resultados. Ying Xu y sus colaboradores desarrollaron tres funciones objetivos y sus correspondientes algoritmos de clustering [2].

2.2.1. Algoritmo de clustering basado en eliminar las aristas largas del MST

Este algoritmo propone basarnos en la diferencia entre arista de corta distancia y larga distancia. Si dos nodos están unidos por una arista de corta distancia, deben de pertenecer al mismo cluster (sub-árbol). Al contrario, si dos nodos están unidos por una arista de larga distancia, deben de pertenecer a diferentes clusters y por lo tanto, cortar dicha relación.

2.2.2. Un algoritmo de clustering iterativo

Este algoritmo comienza con una arbitraria K-partición del árbol y hace la siguiente operación hasta que converge el proceso: para cada par de clusters adyacentes (conectados por una arista del árbol) recorre todas las aristas del cluster resultante (de la fusión de los dos) para encontrar la arista de corte. Así optimiza el particionamiento del cluster resultante que es medida por la función objetivo siguiente:

$$\sum_{i=1}^K \sum_{d \in T_i} \rho(d, center(T_i)),$$

2.2.3. Un algoritmo global de clustering óptimo

Basándonos en una nueva función objetivo, ya no buscamos el centro si no la relación entre padres e hijos. En primer lugar, se convierte el MST en un árbol con raíz (dicha raíz es un vértice del árbol v elegido arbitrariamente) y se va definiendo la relación entre hijos y padres entre todos los vértices del árbol. Mediante programación dinámica se calcula, para cada v el valor mínimo de S :

$$\min_{d \in D} S(root, K, d),$$

2.3. Algoritmo SPICi

2.3.1. Visión general

Este algoritmo usa un enfoque heurístico para construir clusters. En un grafo ya dado, primero se encuentra el vértice cuya suma de todos los pesos de las aristas con la que tiene relación sea la mayor. Es así como ese vértice será la semilla principal de la proteína. Seguidamente, para cada nodo conectado a la semilla principal se suma todas las aristas con las que tienen relación y el más alto es la segunda semilla siempre y cuando la suma sea mayor al umbral T_s (si es menor, se deja de ampliar el cluster y se finaliza). Si no existen más nodos que añadir, se actualiza la densidad ($densidad \times tamcluster \times T_s$) y esta debe ser menor que T_d . Este procedimiento hay que repetirlo hasta que se agrupen todos los vértices del grafo.

2.3.2. Buscando la semilla o inicio de la proteína

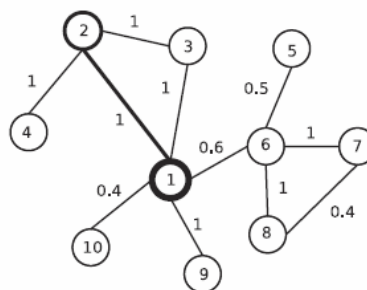


Figura 2.

Según la figura 2, cada vértice tiene un peso de 1 excepto los vértices (1,6), (1,10), (5,6) y (7,8). Supongamos que el umbral de apoyo es $T_s = 0,5$. En este caso, encontramos que el vértice 1 está unido a 2,3,9,10,6 y la suma de los pesos de las aristas son: $1 + 1 + 1 + 0,4 + 0,6 = 4$. El vértice 1 es la semilla principal de la proteína.

2.3.3. Expansión del cluster

Los nodos que están unidos al vértice 1 y cuyo peso es el más alto son los vértices 2,3 y 9. La suma de las aristas del vértice 2 es 3 siendo el más alto de todos y superando el umbral T_s , por lo que el vértice 2 se convierte en la segunda semilla de la proteína. Desde el cluster actual (1,2), elegimos el vértice 3 ya que el 4 no forma parte del cluster. Añadimos el vértice al cluster y calculamos su densidad, que es 1. Ya tenemos el primer cluster (1,2,3) que finalizamos y sacamos de la red ya que al actualizar la densidad: $densidad \times tamcluster \times T_s = 1,5$, el resultado es menor que T_d . Después de esto, la siguiente búsqueda se iniciará desde el vértice 6 y la salida será (6,7,8) como siguiente cluster. Los vértices 4,5,9 y 10 se dejan como clusters aislados.

3. COMPARACIÓN

3.1. Comportamiento de los algoritmos según el tamaño de las redes

Los resultados de los algoritmos varían según el tamaño de las redes que se deban analizar. El algoritmo NNN es el más simple. Trabaja bien para un conjunto de datos reducidos y mejora en todos los aspectos los algoritmos de análisis anteriores a su descubrimiento [3]. Las redes biológicas tienden a crecer, y cada vez es más frecuente trabajar con un grupo de datos mayor, por eso MST mejora los resultados y trabaja bien con redes de gran tamaño. Esto se debe a que la estructura de un árbol facilita implementaciones eficientes de algoritmos de agrupamiento rigurosos, que de otra manera sería computacionalmente difícil de calcular. Como MST no depende de la forma geométrica detallada de un clúster, se puede superar muchos de los problemas que enfrentan los algoritmos de agrupamiento clásicos. Pero sin duda alguna, SPICi es el algoritmo que mejor trabaja con redes de gran tamaño. Según el estudio con otros algoritmos [4], SPICi tiende a mejorar sus resultados según mas grande sea la red. Por ejemplo, para grupos de 5 proteínas los resultados no son de calidad. Pero para grupos de más de 150 proteínas, se desempeña mejor.

3.2. Velocidad de ejecución

Para el algoritmo NNN, el mejor caso se dio al procesar el conjunto de datos de Hughes [5] (6153 genes), estando agrupados totalmente en 3 minutos. El peor caso se dio usando variables $g=5$ $n=40$ que tomó aproximadamente 11.5 minutos. En el algoritmo MST, se usó el conjunto de datos de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* [6] (se seleccionaron 68 genes) y se tardó 1 segundo para la agrupación a través del algoritmo de clustering basado en eliminar las aristas largas del MST, menos de 7 segundos para el algoritmo iterativo y menos de 20 segundos para el algoritmo global de clustering óptimo. SPICi, mediante su coste computacional $O(V \log V + E)$, procesó la red bayesiana humana (24433 vértices y 298473526 aristas) en menos de 20 minutos [4].

3.3. Evaluación global de los algoritmos de clustering

Los algoritmos NNN presentan una buena alternativa a la hora de agrupar nodos, basándose en la interacción de los mismos en lugar de las distancias mínimas. MST a su vez intenta resolver los problemas de agrupamiento mediante particiones en un árbol llevando así al descubrimiento de una serie de algoritmos de agrupación eficientes. SPICi sin embargo, con el uso de umbrales de apoyo y densidad junto a su coste computacional hace que el algoritmo sea más rápido, trabaje de forma excelente con grandes redes y los resultados que arroje la investigación sea de mucha calidad.

4. CONCLUSIONES

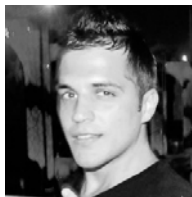
El mejor algoritmo de agrupamiento basado en grafos que hemos analizado es SPICi. Este algoritmo es el que mejor trabaja de manera eficiente y rápida, dando unos resultados de gran calidad [4] y siendo muy aconsejable en el estudio de redes densas. Los tiempos de ejecución son extraordinarios y la gestión de memoria es muy buena, siendo el mejor resultado de todos los algoritmos comparados. Estas características permitirán en el futuro nuevos tipos de análisis, siendo especialmente útiles a los biólogos ya que las redes tenderán a seguir creciendo en tamaño y número.

AGRADECIMIENTOS

Doy las gracias a mi madre, Teresa, por creer en mí. A mis compañeros, tanto a los nuevos como los viejos, con ellos todos estos años han parecido poco tiempo. A la Universidad Pablo de Olavide y en especial a los componentes de la Escuela Politécnica Superior por brindarme la oportunidad de conseguir lo que un día soñé.

REFERENCIAS

- [1] Stuart JM, Segal E, Koller D, Kim SK, "A gene-coexpression network for global discovery of conserved genetic modules," Science 10 October 2003: Vol. 302 no. 5643 pp. 249-255 DOI:10.1126/science.1087447.
- [2] Ying Xu, Victor Olman and Dong Xu, "Clustering gene expression data using a graph-theoretic approach: an application of minimum spanning trees," Bioinformatics (2002) 18 (4): 536-545, doi: 10.1093/bioinformatics/18.4.536
- [3] Curtis Huttenhower, Avi I Flamholz, Jessica N Landis, Sauhard Sahi, Chad L Myers, Kellen L Olszewski, Matthew A Hibbs, Nathan O Siemers, Olga G Troyanskaya and Hilary A Collier, "Nearest Neighbor Networks: clustering expression data based on gene neighborhoods," BMC Bioinformatics 2007, 8:250, doi:10.1186/1471-2105-8-250
- [4] Peng Jiang, Mona Singh, "SPICi: a fast clustering algorithm for large biological networks," Bioinformatics (2010) 26 (8): 1105-1111, doi: 10.1093/bioinformatics/btq078
- [5] Hughes TR, Marton MJ, Jones AR, Roberts CJ, Stoughton R, Armour CD, Bennett HA, Coffey E, Dai H, He YD, Kidd MJ, King AM, Meyer MR, Slade D, Lum PY, Stepaniants SB, Shoemaker DD, Gachotte D, Chakraburttty K, Simon J, Bard M, Friend SH, "Functional discovery via a compendium of expression profiles," Cell. 2000;102(1):109-26.
- [6] Michael B. Eisen, Paul T. Spellman, Patrick O. Brown, and David Botstein, "Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns," PNAS December 8, 1998 vol. 95 no. 25 14863-14868



Iván Cabello León estudiante de Grado en el tercer curso de Ingeniería Informática de Sistemas de Información y Administrador de Sistemas Informáticos por el I.E.S Julio Verne de Sevilla (2009).

MOLEQLA NUTRICIONAL



Portada realizada por Isabel

EVALUACIÓN ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE TRIHALOMETANOS TOTALES EN AGUAS TRATADAS POR MÉTODO CROMATOGRÁFICO

Carlos Severiche-Sierra^{1*}, Marlon Castillo-Bertel¹, Pablo Barreto-Martinez¹, Humberto Gonzalez-García¹

Resumen—La meta de un análisis químico de aguas es generar resultados correctos y confiables, siendo la verificación de ensayos uno de los aspectos más importantes para conseguir este propósito; además constituye un factor clave para la prestación de servicios analíticos. En el presente estudio se hizo la evaluación del método analítico cromatográfico, para la determinación de Trihalometanos Totales en aguas, este se basa en la extracción líquido-líquido de los Trihalometanos presentes, principalmente aquellos que representan riesgo carcinogénico como Cloroformo, Diclorobrometano, Clorodibromometano y Bromoformo. El objetivo de este trabajo fue confirmar la aplicación correcta del método para el análisis de aguas. Se trabajaron muestras de agua potable, siguiéndose estrictamente los protocolos de verificación. Se encontraron resultados satisfactorios en precisión y exactitud con el fin de emitir resultados confiables y reales de la muestra analizada.

Palabras Claves— Agua; método cromatográfico; trihalometano.

1. INTRODUCCIÓN

El aumento en la demanda de agua potable se debe al crecimiento demográfico mundial, al rápido desarrollo económico y social, a la urbanización acelerada, y a las mejoras en el nivel de vida y de los ecosistemas circundantes [1], [2]. El control de la potabilidad y la calidad del agua son muy importantes, ya que éste es el medio de transporte de todas las sustancias y compuestos tanto biológicos como fisicoquímicos [3]. Para llevar a cabo la inspección, vigilancia y control, es necesario realizar un seguimiento de las características fisicoquímicas y microbiológicas del proceso de potabilización de agua y del producto terminado, con el fin de comparar con los valores normativos [4], [5]. Los aumentos de población, y sus impactos relacionados, continúan ejerciendo una gran presión sobre los recursos de agua alrededor del mundo. Al mismo tiempo, el aumento de residuos municipales y agrícolas, aguas de desagüe y productos derivados de la industria, además de los efectos climáticos globales y desequilibrios ecológicos comprometen aún más la calidad del agua [6], [7].

La utilización de cloro como desinfectante se fue implantando en el mundo desarrollado y, hasta la actualidad, pocos son los países que no lo empleen o lo hayan empleado en el pasado como desinfectante la meta de la cloración del agua de consumo es eliminar la materia orgánica y todos aquellos microorganismos patógenos pre-

sentes en ella [6], [8], [9]. No cabe duda que enfermedades de origen hídrico como el cólera, la fiebre tifoidea y la disentería han disminuido radicalmente debido a la desinfección de las aguas con cloro. Cuando el cloro libre reacciona con la materia orgánica existente en el agua, se forman subproductos de desinfección entre los que destacan los trihalometanos, haloacéticos, haloacetanitrilos y haloacetonas, haloaldehídos, fenoles clorados, etc. [6], [7], [8], [9].

No hay razón para discutir la necesidad de la desinfección del agua para bebida; el problema está en evaluar y comparar el riesgo de su toxicidad y potencia cancerígena de los subproductos de la cloración, frente al beneficio que se obtiene en el control de las enfermedades transmitidas por el agua contaminada. Al ser una sustancia tan activa, un exceso de cloro puede reaccionar con distintos compuestos orgánicos, por lo que aumenta el riesgo de que se produzcan trihalometanos, que son compuestos carcinógenos para el ser humano [8], [10].

La materia orgánica genera color, sabor y olor, fomenta el crecimiento de biopelícula en los sistemas de abastecimiento de agua interfiere en la remoción de hierro y manganeso, incrementa la demanda de químicos y los costos de tratamiento, potencia el transporte de sustancias orgánicas hidrofóbicas adsorbidas y de contaminantes inorgánicos, agrava la corrosión en tuberías y, lo más importante, reacciona con el desinfectante usado en la oxidación y desinfección del agua formando subproductos de desinfección entre los que se incluyen los trihalometanos.

(1) Aguas de Cartagena SA ESP, Laboratorio de Calidad de Aguas, Planta de Tratamiento de Agua el Bosque, Transversal 45 No. 26-160, Cartagena de Indias-Colombia. *cseveriches@gmail.com

nos, ácidos haloacéticos y otros compuestos halogenados [7], [9], [11].

Los Trihalometanos es el grupo de mayor atención por ser comúnmente encontrados y estar asociados con potenciales efectos cancerígenos y daños reproductivos en animales de laboratorio y considerados como posibles cancerígenos en humanos. Ante esto, se ha planteado reducir el uso de desinfectante, pero la preocupación por enfermedades de origen hídrico asociadas a microorganismos patógenos resistentes impide tomar esta determinación, ya que la mayoría de problemas de salud asociados con el agua son por contaminación microbiana con bacterias, virus, protozoarios y enteropatógenos como *Cryptosporidium* spp. y *Giardia duodenalis* [11]. La concentración de THMs depende de la presencia de precursores (compuestos activos que pueden reaccionar con el cloro), así como de la dosis de cloro, tiempo de contacto, temperatura del agua y pH [8], [10], [11].

El método se basa en la extracción líquido-líquido de los Trihalometanos presentes, principalmente aquellos que representan riesgo carcinogénico como Cloroformo, Diclorobrometano, Clorodibromometano y Bromoformo. Durante el proceso pueden ser extraídos otros derivados Halometanos que representan menor riesgo y que son analizados mediante otra técnica cromatográfica. Los Trihalometanos extraídos son analizados conjuntamente con los patrones de trabajo mediante una curva de calibración con estándar externo, un cromatógrafo de gases equipado con columna capilar, puerto de inyección Cool On-Column y detector de captura de electrones (ECD).

En el presente trabajo se llevó a cabo la verificación del método cromatográfico para la determinación de Trihalometanos en aguas. La técnica estudiada es aplicable a un rango de 5 µg/L a 150 µg/L, rango de interés, ya que la mayoría de muestras analizadas en el laboratorio están en este intervalo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El Método de referencia aplicado es el descrito en la edición 22 de los Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales, métodos 6010B y 6232B [12]. El método original plantea extracción líquido-líquido con pentano como solvente mientras que en el presente trabajo se utiliza como alternativa el hexano alta pureza. Esto sólo implica pequeños cambios en la programación de temperatura del horno y los tiempos de retención de los compuestos pero no representa cambios significativos en el método original. Este es aplicable a aguas potables que han sido desinfectadas con cloro. Los compuestos que se determinan principalmente son, Cloroformo (CHCl₃), Bromodiclorometano (CHCl₂Br), Dibromoclorometano (CHClBr₂) y Bromoformo (CHBr₃). Las interferencias pueden deberse a la presencia de contaminantes en el solvente usado, en los reactivos, en el material de vidrio y en el sistema cromatográfico, especialmente la columna.

Para eliminar toda interferencia se debe analizar blancos tanto del hexano usado como del agua desionizada del laboratorio, seguir el protocolo de limpieza del material de vidrio que se describe en el procedimiento y realizar purgas desde el inyector hasta el sistema de detección; mediante el procedimiento de limpieza térmica. El rango de trabajo va hasta 150 µg/L de THMs; La legislación para agua potable no establece límites para los compuestos individuales sino para los Trihalometanos totales y éste es de 200 µg/L. Hecho por lo cual, el laboratorio utiliza el método debido al tipo de muestras que se analizan con frecuencia [12].

Se muestra a continuación en detalle la ruta desarrollada:

- Recolección, preservación y almacenamiento de muestras:

Las muestras provenientes de la red de distribución de agua potable se recogen en viales de vidrio de 40 mL con tapa de rosca revestida de TFE, previamente limpios según el protocolo de limpieza y preparación del material de vidrio.

- Adicionar el preservante a los viales bien sea de tiosulfato de sodio (3 mg) o ácido ascórbico (25 mg).
- En campo, se llena el vial con la muestra hasta aproximadamente la mitad del vial, se tapa y se agita suavemente hasta disolución total del preservante, luego se rellena con la misma muestra hasta rebose (evite el enjuague del vial con la muestra) y no permita la formación de burbujas a través de la muestra.
- Sitúe el vial sobre una superficie nivelada, coloque el lado de teflón de la tapa sobre el menisco convexo de la muestra y cierre herméticamente la tapa de rosca.
- Invierta la muestra y golpee levemente el vial sobre una superficie sólida. La ausencia de aire atrapado indica un cierre correcto. En caso contrario, desenrosque la tapa, rellene con muestra nuevamente y repita el cierre hermético.
- Conserve la muestra bajo refrigeración a una temperatura de aproximadamente 6°C (no se debe congelar).
- Extraer los THMs durante los siete (7) días siguientes a la toma y analizar completamente antes de los catorce (14) días a partir de la toma.

Si la toma de muestra se realiza a partir de un grifo, abra éste y deje correr hasta que se estabilice la temperatura del agua y el cloro residual (normalmente unos 5 minutos). Cuando la toma de muestra se efectúe a partir de un sistema abierto de agua (tanque o reservorio de agua), rellénesse un vaso de precipitado de 1 litro con una muestra representativa y a partir de ésta, llene cuidadosamente los viales en forma de sifón para evitar la formación de burbujas.

- Equipos y materiales:

- Cromatógrafo de Gases con Inyector On-Column, Detector de captura electrónica (ECD) y Software actualizado ChemStation para el procesamiento de

datos

- Columna capilar, 30m, 0.53mm ID, 2.65 μ m Film Thickness
- Jeringa con aguja de filamento de 10 μ L Ref. # 5182-3499 para puerto de inyección Cool On Column
- Pipetas mecánicas desde 20 μ L a 10 mL
- Pipetas de vidrio aforadas de 10 mL
- Puntas para pipetas mecánicas
- Balones aforados de 50-500 mL
- Vaso de precipitado de 1 litro
- Embudos de separación de 500 mL
- Viales de vidrio con tapa rosca de TFE de 40 mL
- Cajas de Petri de vidrio

- Reactivos:

Todos los reactivos son de grado analítico, excepto se indique alguna especificación.

- Metanol grado cromatográfico (MeOH), para análisis orgánico de trazas.
- Hexano calidad cromatográfico, para análisis orgánico de trazas.
- Solución Madre certificada de THMs (Mezcla patrón) 200 μ g/mL en Metanol (MeOH) almacenada en nevera a $\leq 6^{\circ}\text{C}$ hasta la fecha de vencimiento.
- Solución Stock Intermedia de THMs de 2000 μ g/L en Metanol almacenada en nevera a $\leq 6^{\circ}\text{C}$ hasta por 1 año.
- Soluciones Patrones de trabajo para la curva de calibración de: 5, 10, 20, 40, 80 y 150 en agua desionizada. Se preparan al momento de usar.
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
- Ácido Ascórbico
- Nitrógeno de Alta Pureza

Las condiciones ambientales no son críticas para la realización de este ensayo. Para un óptimo funcionamiento del cromatógrafo de gases, éste debe permanecer en un local aclimatado y de baja humedad.

- Preparación del material de vidrio:

Para evitar toda interferencia, se debe utilizar material de vidrio cuidadosamente seleccionado y aislar el sitio de preparación de las muestras de fuentes contaminantes. Se debe seguir el protocolo de limpieza y preparación del material de vidrio para análisis de compuestos orgánicos:

- 1) Lavar todo el material con agua caliente y detergente; enjuagar cinco (5) veces con agua potable y dos (2) veces con agua destilada, posteriormente, con 10 mL de metanol seguido de 10 mL de hexano y finalmente enjuagar con agua desionizada. No es aconsejable hornear ni utilizar solventes orgánicos previamente al mismo, porque el uso de estos previo al horneado, puede producir compuestos de degradación que interfieren con los procedimientos analíticos, además, pueden generar complicaciones como explosiones por inflamabilidad de los solventes.
- 2) Si la presencia de materia orgánica y/o material particulado es detectado, pasarlo por ultrasonido durante 10 minutos con agua destilada.

Utilice en lo posible solventes de alta pureza que ayuden a minimizar los problemas de interferencias, sin embargo, solventes grado reactivos son suficientes para el lavado.

- Tratamiento de la muestra (Extracción):

Para la extracción de THMs se utiliza la técnica de extracción Líquido-Líquido con Hexano grado cromatográfico, tenga siempre en cuenta que los Trihalometanos son compuestos volátiles.

Permita que las muestras se aclimaten a la temperatura del laboratorio y extraiga del vial 10 mL de la muestra con ayuda de una pipeta aforada y deseche este volumen, adicione igual cantidad de n-Hexano grado cromatográfico al respectivo vial, cierre herméticamente la tapa de TFE y agite invirtiendo cinco veces el vial (no agite vigorosamente para evitar pérdidas por volatilización), deje reposar por unos diez (10) minutos; al interior se observarán dos capas, una orgánica y otra acuosa.

Analice la fase orgánica para determinar la concentración de THMs, inyectando esta capa en el cromatógrafo de gases.

Cuando desee almacenar el extracto durante más de dos (2) días, transfiera la capa orgánica a un vial con tapa rosca de teflón y guarde a una temperatura $\leq 6^{\circ}\text{C}$.

- Determinación Cromatográfica:

Las condiciones cromatográficas del análisis se describen a continuación:

INYECTOR	Modo: Cool On-Column (inyección frío en columna). Temperatura Oven Trak: 48°C Presión: 1.47 psi Gas de Arrastre: Nitrógeno (N_2) Jeringa Agilente de 10 μ L
HORNO	Columna: HP-1 30m, 530 μ m, 2.65 μ m Flujo en la Columna: Constante, 2 mL/min Presión inicial (psi)= 1.47 Programación de Temperatura: Inicial: 45°C t= 2,0 min Rampa 1 = $12^{\circ}\text{C}/\text{min}$ Temperatura: 120°C t= 1.0min Rampa 2 = $8^{\circ}\text{C}/\text{min}$ Temperatura: 165°C t= 0min Tiempo de corrida= 14.88 minutos
DETECTOR	FRONTAL Tipo: ECD Temperatura = 300°C Gas Auxiliar (Make up): Nitrógeno (N_2), 65mL/min Flujo del ánodo= 6.5 mL/min Señal 1= Front Det - Col Comp 1

Los datos y condiciones anteriores son aproximados y deben optimizarse con cada cambio en el equipo. El cromatógrafo utilizado es automatizado y cualquier cambio

en una de las condiciones de temperatura, flujos de gases y presiones, será advertida por el mismo mediante un aviso de error y/o señal audible (sonido). Existen condiciones que pueden variar con el tiempo como por ejemplo la columna capilar que modificaría los tiempos de retención (RT) de los compuestos analizados, lo que se corregiría con la modificación del gas de arrastre (Nitrógeno).

- Preparación del Patrón Intermedio de 2000 µg/L:

Tome 1 mL de la Solución Madre certificada de 200 µg/mL de THMs y adiciónelo bajo la superficie de aproximadamente 95 mL de metanol contenidos en un balón aforado de 100 mL, complete volumen con el mismo solvente y agite invirtiendo suavemente el volumétrico para evitar pérdidas por volatilización. Este patrón bien cerrado tiene una vida útil de 6 meses a una temperatura ≤ 6°C.

- Preparación de la curva de calibración con estándar externo:

A partir de la solución patrón Intermedia de 2000 µg/L, prepare los 6 patrones de trabajo en el intervalo de 5 a 150 µg/L. Agite suavemente invirtiendo el vial cinco veces (no agite vigorosamente) y extraiga con 10 mL de hexano grado cromatográfico agitando por inversión del vial cinco veces, inyecte 1µL del extracto orgánico al Cromatógrafo de gases.

- Preparación de blancos:

Analizar un blanco antes del análisis de las muestras a partir de 1 litro de agua deionizada, con el fin de determinar la línea base del solvente; siga el mismo proceso de extracción que utiliza para las muestras.

- Cálculos y presentación de los resultados:

Para la Identificación de los Trihalometanos, se determina la concentración de los compuestos individuales en unidades de µg/L y se reportan con dos (2) cifras decimales.

Se utiliza un procedimiento de calibrado Estándar Externo con curva de calibración en diferente nivel de concentración. El equipo cromatográfico reporta el resultado en µg/L directamente sin correcciones ni cálculos posteriores utilizando la respuesta de picos mediante la curva de calibración elaborada previamente. Mediante la siguiente fórmula es realizado el cálculo y presentación de los resultados:

RF= Cantidad de material inyectado, µg/ R_p ; C_{MTRA}. (THMs), µg/L= RF * R_x/V_x

Donde, RF = Factor de respuesta calculado por el equipo según la curva

R_p = Área del pico patrón en la curva

R_x = Área del pico de muestra inyectado

V_x = Volumen de muestra extraída, L

C_{MTRA}. = Concentración de la muestra, µg/L

La concentración de trihalometanos totales se calcula

mediante la suma de las concentraciones individuales obtenidas según la fórmula previa. Dado que la concentración mínima a reportar para cada compuesto individual es de 5 µg/L, aquéllas muestras con bajos contenidos se reportarán como < 20 µg/L de trihalometanos totales.

Chequéese la curva con patrones en el rango bajo y alto de la misma, un ejemplo puede ser 10 y 120 µg/L respectivamente, si los resultados son coincidente en +/- 20%, utilice la curva de calibrado para analizar las muestras, en caso contrario, construya una nueva curva de calibración.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo con los protocolos de verificación se evaluaron los siguientes parámetros: precisión y exactitud [13], [14], [15]. No es necesario evaluar: identificación, selectividad, especificidad ni robustez, ya que estos parámetros no son alterados por la modificación introducida [16].

A continuación se exponen e interpretan los resultados obtenidos en los ensayos de verificación del método, que se realizaron siguiendo el procedimiento de análisis referenciado, los resultados descritos se obtuvieron con muestras de agua potable colectadas en la red de distribución de agua potable de Cartagena, así como muestras certificadas comerciales y las empleadas en las pruebas de desempeño del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM).

Precisión:

Evaluada como repetibilidad con muestras de agua potable, los datos de repetibilidad se muestran en la tabla 1, Con base a los contenidos de Trihalometanos y la tabla de Horwitz, puede considerarse satisfactoria la repetibilidad.

TABLA 1
REPETIBILIDAD CON MUESTRAS DE AGUA POTABLE

	Clorofor- mo	Diclo- robromo- meta- no	Clorodi- bromome- tano	Bromo- formo	THMs Total
CV% _m	3.9	5.9	1.3	0.1	3.1
Mínimo	0.4	1.8	X	X	0.1
Máximo	8.3	10.5	X	X	8.8
µg/L	9-37	10-25	8	9	11-79
N	6	3	1	1	6

En la tabla 2, se detalla la reproducibilidad interna, evaluada como reproducibilidad interna con muestras certificadas analizadas en más de una ocasión y se considera también satisfactoria.

TABLA 2
REPRODUCIBILIDAD INTERNA CON MUESTRAS CERTIFICADAS

Clorofor- mo	Diclo- robromo- meta	Clorodi- bromome- tano	Bromo- formo
-----------------	----------------------------	------------------------------	-----------------

	no			
CV% _m	5.8	10.0	7.8	8.4
Mínimo	1.2	1.6	0.7	0.0
Máximo	13.6	22.5	16.6	20.8
n	8	8	8	8

Exactitud:

En la tabla 3 y 4, se muestran los ensayos para la determinación de la exactitud, siendo las pruebas de desempeño del IDEAM y muestras certificadas el derrotero para la consecución de este parámetro de calidad analítica.

Pruebas de evaluación de desempeño del IDEAM (Puntajes):

TABLA 3
PRUEBAS DE EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO DEL IDEAM

Año	Cloroformo	Diclorobromometano	Clorodibromometano	Bromoformo
2009	50	30	30	90
2010	80	70	30	100
2011	50	70	100	100

Muestras certificadas:

Análisis de muestras certificadas, incluidas las del IDEAM analizadas en ocasiones posteriores. En total se realizaron 21 análisis,

TABLA 4
ANÁLISIS DE MUESTRAS CERTIFICADAS

Compuesto	Cloroformo
Cloroformo	-0.83 (-3.89/1.27)
Diclorobromometano	0.87 (-1.70/2.31)
Clorodibromometano	-0.20 (-1.88/0.67)
Bromoformo	0.14 (-1.08/1.83)

Recobrados:

Para 13 pruebas realizadas en un período de más de 3 años, con concentraciones individuales entre 5 y 200 µg/L, el resumen de los resultados se muestran en la tabla 5.

TABLA 5
PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN EN MUESTRAS

	Cloroformo	Diclorobromometano	Clorodibromometano	Bromoformo	THMs Total
Promedio	100.8	99.9	103.2	102.9	101.7
Mínimo	94.0	95.1	96.2	97.6	97.2
Máximo	113.9	110.3	114.4	108.6	110.6
CV%	3.5	3.9	5.6	2.8	2.5

Los cuales se consideran satisfactorios dado que el Standard Methods considera el intervalo 80-120% como

adecuado.

El límite de detección para cada compuesto, se establece en 2.5 µg/L por lo que teniendo en cuenta que, la legislación para agua potable no establece límites para los compuestos individuales sino para los Trihalometanos totales y éste es de 200 µg/L y la concentración de Trihalometanos totales se calcula mediante la suma de las concentraciones individuales y a concentraciones de 5 µg/L, los resultados son satisfactorios (recobrados entre 96.6 y 111.7%); Se establece 5 µg/L como la concentración mínima a reportar para cada compuesto individual y por tanto, las muestras con bajos contenidos se reportarán como < 20 µg/L de trihalometanos totales.

4. CONCLUSIONES

El método estandarizado presenta adecuadas características de desempeño, al ser preciso (coeficientes de variación <10%), veraz (no presenta sesgo significativo), con un adecuado intervalo de concentración y una concentración mínima a reportar de 5 µg/L para cada compuesto.

Estas características permiten que el mismo se ajuste al propósito para el cual fue diseñado, que consiste en la determinación de Trihalometanos totales en muestras de aguas tratadas.

Se vuelve un método de referencia para otros laboratorios que deseen aplicarlo en Colombia, al estar este parámetro acreditado ante el IDEAM, ya que pueden reportar resultados correctos y confiables, además de ser una guía a nivel internacional.

REFERENCIAS

- [1] Cheng H, Hu Y, Zhao J. 2009. Meeting China's water shortage crisis: current practices and challenges. Environm. Sci. Techn. J. Número 43. Volumen 2. pp. 240-244.
- [2] Sarabia I. 2011. "Calidad del agua de riego en suelos agrícolas y cultivos del Valle de San Luis Potosí, México". Revista Internacional de Contaminación Ambiental. Número 27. Volumen 2. pp. 103-113.
- [3] Arboleda J. Teoría y práctica de la purificación del agua. 2000. Colombia: Ed Mc Graw Hill, p.31.
- [4] Simanca M, Álvarez B, Paternina R. 2010. "Calidad física, química y bacteriológica del agua envasada en el municipio de Montería". Revista Temas Agrarios. Número 15. Volumen 1. pp. 71-83.
- [5] EPA. Guidelines for Water Reuse, EPA- Part III, 40 CFR, Part 122, U. S2007. Environmental Protection Agency U.S. Agency for International Development, USA, p.136.
- [6] Sánchez A. 2008. Efectos de los trihalometanos so-

bre la salud. Revista Higiene y Sanidad Ambiental. Número 8, pp. 280-290.

[7] Freire C, Soler R, Fernández M, Villanueva C, Grimalt J, Olea N. 2008. Valores de trihalometanos en agua de consumo de la provincia de Granada, España. Revista Gaceta Sanitaria. Número 22. Volumen 6. pp. 520 – 526.

[8] Font L, Esplugues A, Ballester F, Martínez B, Arguelles G, Tardon A, Freire C, Sunyer J, Villanueva C, Carrasco G, Casese A, Fernández M. 2010. Trihalometanos en el agua de piscinas en cuatro zonas de España participantes en el proyecto INMA. Revista Gaceta Sanitaria. Número 24. Volumen 6. pp. 483-486.

[9] Hernandez C, Gonzalez L, Armendáriz C, Caballero J, Ben-Charki E, Harrison A. 2011. Trihalometanos en aguas de consumo humano. Revista de Toxicología. Número 28. pp. 109-114.

[10] Sarmiento A, Rojas M, Medina E, Olivet C, Casanova J. 2003. Investigación de trihalometanos en agua potable del Estado Carabobo, Venezuela. Revista Gaceta Sanitaria. Número 17. Volumen 2. pp. 137-143.

[11] Arjona S, Torres P, Cruz C, Loaiza D, Escobar J. 2012. Efecto del punto de precloración sobre la formación de trihalometanos en procesos convencionales de potabilización de agua. Revista Ingenierías Universidad de Medellín, Número 20. Volumen 11. pp. 57 – 66.

[12] APHA-AWWA-WEF (2012) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22th Edition. 6-3, 6-48 a 6-53, método 6010 B y 6232 B.

[13] Cortés G, García R. 2009. Validación con base en los criterios de aplicación de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 en mediciones químicas y físicas. Ed. Entidad Mexicana de Acreditación. México, p.25.

[14] Cortes G. Lineamientos para el control de calidad analítica. 1999. Ed Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM. Colombia, p.11.

[15] Cortés G. Validación de métodos. 2010. Docto. No. MP-CA005-02. Ed Entidad Mexicana de Acreditación. México, p.37.

[16] M. Velázquez; J. Pimentel y M. Ortega. 2011. "Estudio de la distribución de boro en fuentes de agua de la cuenca del río Duero, México, utilizando análisis estadístico multivariado". Rev. Int. Contam. Ambient. (México). 27(1): 9-30.



Carlos Severiche-Sierra. Químico de la Universidad de Cartagena 2008, Especialista en Ingeniería Sanitaria y Ambiental de la Universidad de Cartagena 2011, Magister en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente de la Universidad de Manizales 2013, experiencia empresarial en calidad de aguas, validación de métodos analíticos y calidad ambiental marina, docente universitario e investigador, desde 2010 es Especialista Grado Superior área fisicoquímica del Laboratorio de Calidad de Aguas de la empresa Aguas de Cartagena SA ESP en Cartagena de indias, Colombia.



Marlon Castillo-Bertel. Recibió el título de Químico por la Universidad de Cartagena en 2009, Desde el año 2012 a la actualidad es Especialista Grado Superior del Laboratorio de Calidad de aguas área de cromatografía de la empresa Aguas de Cartagena SA ESP en Cartagena de indias, Colombia.



Colombia.

Pablo Barreto-Martinez. Recibió el título de Químico Farmacéutico por la Universidad de Cartagena en 1996, con más de 17 años de experiencia en la temática del análisis instrumental y la química analítica, ingreso a la empresa de agroquímicos Novartis por periodo de 2 años. Desde el año 1998 hasta la actualidad es Especialista Grado Superior del Laboratorio de Calidad de Aguas, área de residuales, de la empresa Aguas de Cartagena SA ESP en Cartagena de indias,



Humberto Gonzalez-García. Es Químico de la Universidad de La Habana (Cuba), Doctor en Ciencias Químicas del Instituto Cubano de Ciencia, posee más de 60 publicaciones científicas y técnicas a cerca de la química analítica ambiental, desde el año 1998 hasta la actualidad es el Jefe del Laboratorio de Calidad de Aguas de la empresa Aguas de Cartagena SA ESP en Cartagena de indias, Colombia.

Hidrogenación de las grasas: la otra cara del doble enlace

Patricia de la Cruz Ojeda

Resumen—La hidrogenación parcial de las grasas permite obtener grasas con ácidos grasos trans. Esto le confiere a las grasas textura, punto de fusión y sabor adecuados para su uso en la industria alimentaria. Sin embargo, su ingesta tiene implicaciones desfavorables en nuestra salud, puesto que aumenta el riesgo de padecer accidentes cardiovasculares o sufrir diabetes.

Palabras Claves— hidrogenación, saturación, ácido graso, cis, trans, riesgo cardiovascular, diabetes.

1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas ha ido aumentando el porcentaje de grasas hidrogenadas en los alimentos, lo que ha despertado el interés de los investigadores. De forma natural es posible encontrarlos en carnes o productos lácteos, siendo necesaria su ingesta. También es posible obtenerlos de forma industrial mediante la hidrogenación de aceites vegetales. Uno de los productos más frecuentes y más utilizados por sus ventajas en el sistema de producción, y a nivel económico, son los ácidos grasos *trans*. En este artículo se analiza el proceso de obtención, así como las consecuencias que puede tener su ingesta en la salud.

2. ISÓMEROS TRANS Y GRASAS HIDROGENADAS

Las grasas están formadas por un esqueleto de glicerina y tres ácidos grasos, unidos a esta por medio de un enlace de tipo éster. En función de los dobles enlaces que estos presenten se pueden clasificar en saturados o insaturados. Los primeros destacan porque todos sus enlaces carbono-carbono son simples. En los ácidos grasos insaturados encontramos enlaces dobles carbono-carbono. De esta característica depende el punto de fusión de la grasa que lo contenga. Esto último es de gran importancia en la industria alimentaria, ya que principalmente va a disminuir el tiempo de producción y los costes energéticos, reduciendo el coste total de producción.

Las grasas con ácidos grasos saturados poseen altos puntos de fusión y por ello las grasas que los contienen se encuentran sólidas a temperatura ambiente. En el caso de poseer ácidos grasos insaturados estos podrán tener isomería cis o isomería trans. En su forma natural, los ácidos grasos insaturados presentan mayoritariamente isomería cis, siendo los isómeros *trans* prácticamente inexistentes en aceites y grasas de origen vegetal no refinados. Sin embargo, la isomería trans produce estructuras moleculares más rígidas y con mayor punto de fusión que los isómeros cis de número equivalente de carbonos, pero menos que el de los ácidos grasos saturados, tal y como se puede observar en la siguiente tabla:

TABLA 1
PUNTOS DE FUSIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Símbolo	Nombre común	Punto de fusión (°C)
C 12:0 ²	Láurico	44,2
C 16:0	Palmítico	63,1
C 18:0	Esteárico	69,6
C 18:1 (6 c)	Petroselínico	29
C 18:1 (6 t)	Petroselaídico	54
C 18:1 (9 c)	Oleico	16
C 18:1 (9 t)	Elaidico	45
C 18:1 (11 c)	Cis-vacénico	15
C 18:1 (11 t)	Trans-vacénico	44
C 18:2 (9 c, 12 c)	Linoleico	-5
C 18:2 (9 c, 12 t)	Linoelaídico	28
C 18:2 (9 t, 11 t)		54
C 18:3 (9 c, 12 t, 15 c)	Linoléico	-11
C 18:3 (9 t, 12 t, 15 t)		30
C 18:3 (9 c, 11 t, 13 t)	α -eleosteárico	49
C 18:3 (9 t, 11 t, 13 t)	β -eleosteárico	71,5

En la tabla aparecen los puntos de fusión de los distintos ácidos grasos, ordenados de menos a mayor número de carbonos, y con distintas insaturaciones.

¹ N° total de átomos de C

² N° de dobles enlaces y naturaleza, c=cis, t=trans

Este punto de fusión intermedio de los ácidos grasos *trans* es de gran utilidad en la manufactura de alimentos, puesto que aporta características organolépticas favorables a las grasas hidrogenadas tales como textura y sabor. Además presentan una gran resistencia al enranciamiento, lo que permite un mayor tiempo de conservación.

3. ¿CÓMO SE PRODUCE LA HIDROGENACIÓN?

Los ácidos grasos trans que consumimos actualmente tienen un origen tanto biológico como tecnológico. Los de origen biológico son aquellos que se encuentran de forma natural en leches, carnes y derivados lácteos de rumian-

tes. En estos animales tiene lugar una biohidrogenación. La llevan a cabo los microorganismos de su aparato digestivo, cuya acción principal consiste en hidrogenar parcialmente ácidos grasos insaturados como el linoleico o el linoléico y luego isomerizarlos, transformándolos en derivados con isomería *trans*.

Sin embargo, los aceites vegetales y marinos utilizados en la industria no poseen en su forma natural las propiedades adecuadas para ser incorporados a un gran número de alimentos. Es por ello necesaria una modificación. Uno de los métodos más usados para llevar a cabo esta modificación es la hidrogenación. La hidrogenación permite utilizar estos aceites, puesto que se obtienen productos resistentes a la oxidación y de fácil manejo, que los hace muy adecuados como sustitutos de sebos o mantecas animales.

La hidrogenación se realiza bajo determinadas condiciones de presión y temperatura y en presencia de un catalizador metálico (suele ser níquel), burbujeando hidrógeno gaseoso en el aceite. Si se lleva a cabo una hidrogenación total solo se obtienen ácidos grasos saturados. En este caso, además, nunca se obtendrán estereoisómeros ya que la hidrogenación se produce en la misma cara del doble enlace. Si se controlan las condiciones de la reacción se puede llevar a cabo una hidrogenación parcial que sí tendrá consecuencias estereoisoméricas. Se obtendrá una mezcla de ácidos grasos saturados y de ácidos grasos insaturados, ya sean monoinsaturados o poliinsaturados con isomería *cis* o *trans*. El ácido graso *trans* que se forma en mayor proporción es aquel formado por 18 carbonos y que presenta una insaturación en el décimo carbono.

4. IMPLICACIONES EN LA SALUD

Los ácidos grasos deben formar parte de nuestra dieta puesto que son necesarios para la formación de las membranas celulares y de los tejidos, así como para la obtención de energía. Sin embargo, su consumo ha de ser moderado, sobre todo el consumo de ácidos grasos *trans*.

Uno de los efectos negativos relacionados con su consumo es la pérdida de propiedades de los ácidos grasos esenciales, puesto que compiten con ellos e inhiben la enzima Δ -6-desaturasa, implicada en el metabolismo de estos ácidos grasos y en la síntesis de las prostaglandinas. Se ha estudiado la alteración de estos ácidos grasos en lechones y se ha comprobado que se producen cambios en los fosfolípidos de la arteria aorta, lo cual constituye un factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares. En humanos poseemos estudios epidemiológicos y clínicos que han relacionado la ingesta de ácidos grasos *trans* con un aumento en el nivel de triacilglicéridos en sangre y en el nivel de colesterol HDL, con el consiguiente aumento en el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

De la misma forma se han relacionado con el desarrollo de la diabetes ya que pueden influir en genes relacionados con la regulación de la sensibilidad a la insulina. También existen evidencias que los relacionan con una mayor tendencia a desarrollar cáncer de próstata, colon y

mama, aunque no son concluyentes.

5. CONCLUSIONES

Aunque ingerimos grandes cantidades de grasas en nuestra dieta no somos conscientes de sus posibles efectos perjudiciales. Durante los últimos años las grasas *trans*, en especial, han suscitado un gran interés y se han comenzado a hacer estudios más concluyentes sobre sus efectos en la salud. Sin embargo, siguen siendo un ingrediente de gran importancia en la industria alimenticia, donde se obtienen mediante hidrogenación parcial. Gracias a este proceso se utilizan aceites vegetales y marinos que de otra forma caerían en desuso. La explicación al hecho de que todavía se sigan usando reside en que su manipulación origina productos que abaratan los costes de producción y facilitan la manufactura de los alimentos.

REFERENCIAS

- [1] M.N.Ballesteros-Vásquez, L.S. Valenzuela-Calvillo, E.Artalejo-Ochoa y A. E. Robles-Sardin. "Ácidos grasos *trans*: un análisis de su consumo en la salud humana, regulación del contenido en alimentos y alternativas para disminuirlos". *Nutr Hosp*.2012;27(1): 54-64
- [2] Alfonso Valenzuela B. "Ácidos grasos con isomería *trans* I. Su origen y los efectos en la salud humana" *Rev Chil Nutr* Vol. 35, Nº2, Septiembre 2008.
- [3] D. Barrera-Areliano y J.M.block. "Ácidos grasos *trans* en aceites hidrogenados: implicaciones técnicas y nutricionales" *Lab de Oleos e Gorduras*. FEA/UNICAMP.
- [4] V.Griguol, M.León-Camacho e I.M.Vicario "Revisión de los niveles de ácidos grasos *trans* encontrados en distintos tipos de alimentos" *Grasas y Aceites*, 58(1), Enero-Marzo, 87-98, 2007.
- [5] Cala H. Cervera "La nutrición ortomolecular" 2003, Ediciones Robinbook, s.l., Barcelona



Patricia de la Cruz, actualmente estudiante de primero de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

A 3D visualization of a molecular reaction path. The reaction coordinate is shown as a series of connected spheres, with a dashed line indicating the transition state. The molecules are represented by ball-and-stick models with blue, green, and white atoms. The background is a dark, wavy surface representing the potential energy landscape. The text "MOLEQLA TERMODINÁMICA Y CINÉTICA" is overlaid in the center.

MOLEQLA TERMODINÁMICA Y CINÉTICA

Policaprolactona (PCL) y su aplicación a la regeneración tisular.

Alejandra Estepa Fernández, M^a Remedios Domínguez Flores, Jesús Lavado García, Clara Rodríguez Fernández.

Resumen—Las últimas técnicas de cultivo *in vitro* de tejidos usan el polímero policaprolactona para crear una estructura de andamiaje óptima para el desarrollo y maduración de condrocitos para crear tejido cartilaginoso.

Palabras Claves— Cartílago, Condrocito, *Electrospinning*, Policaprolactona (PCL), Polímero.

1. INTRODUCCIÓN

La ϵ -Caprolactona puede polimerizar fácilmente para producir un poliéster, la policaprolactona o PCL que tiene características peculiares. Su bajo punto de fusión, (60°C) permite que sea moldeado manualmente y además es biodegradable. En condiciones fisiológicas, se hidrolizan los enlaces ésteres pero a una velocidad muy lenta, por lo que es aplicado como material para la implantación en el cuerpo humano de dispositivos a largo plazo.

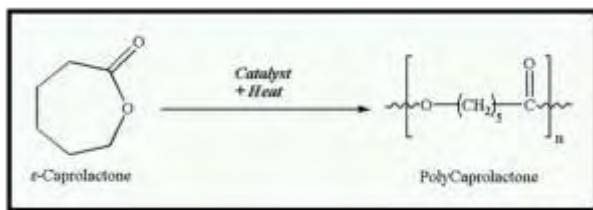


Fig. 1. Polimerización de la ϵ -Caprolactona.

Este polímero comparte las propiedades de las gomas ya que a una temperatura de 25-37 °C (temperatura ambiente o temperatura corporal) adquiere una estructura amorfa corta y poco viscosa. Esto le permite adherirse bien a otras superficies y además, el hecho de que sea miscible con otros plásticos o polímeros se puede utilizar para usarla en la técnica de impresión de condrocitos. Los condrocitos necesitan un refuerzo artificial donde poder desarrollarse y la alta compatibilidad de la policaprolactona con los requerimientos de la estructura cartilaginosa la hacen idónea para esta aplicación.[1]

La aplicación consiste en usar el PCL como material de ensamblaje para una "Impresora de Cartílago". La técnica de la impresión de células (*condrocitos*) se ha desarrollado mucho en los últimos años usando un método análogo a la impresión de tinta. Pero esta impresión necesita un soporte para que las células sean viables, se desarrollen y regeneren un tejido. El PCL es el material idóneo para ello. Aquí nos vamos a centrar en la preparación y el papel del polímero en el desarrollo del implante de tejido.[2]

2. APLICACIONES DE LA POLICAPROLACTONA

2.1. Aplicaciones comunes

La aplicación más común de este polímero es su utilización como aditivo en el proceso de fabricación de ciertos poliuretanos debido a que les proporcionan una buena resistencia al agua, aceites, disolventes y al cloro. También se emplea como aditivo para las resinas con el fin de mejorar su procesamiento y sus propiedades (confiere, por ejemplo, resistencia a impactos).[1]

Además, puede mezclarse con una gran variedad de materiales como el almidón, con lo que se consigue reducir sus costes de producción y mejorar su biodegradabilidad [3]. El Mater Bi producido por Novamont constituye un ejemplo del uso de la PCL mezclada con almidón que se emplea, por ejemplo, en la fabricación de cubiertos, como los mostrados en la figura 2.[1]



Fig. 2. Uno de los usos de la ϵ -Caprolactona es la fabricación de cubiertos

Por otra parte, también encontramos a la PCL presente en el mercado de los hobbies en marca comerciales como Hand Moldable Plastic y InstaMorph (figura 3) en los Estados Unidos o Polymorph en el Reino Unido, que lo utilizan por sus propiedades de plástico muy duro y porque se hace muy manejable a los 60°C; convirtiéndose en una buena opción en procesos donde la resistencia al calor no es necesario como pequeños modelados, fabricación de piezas, reparación de objetos de plástico o prototipado rápido.[1]



Fig. 3. InstaMorph con sus instrucciones de uso

3. APLICACIÓN MÉDICA. REGENERACIÓN TISULAR

3.1. La construcción del sistema de impresión híbrido.

Para construir las estructuras cartilaginosas, investigadores de la Universidad de Wake Forest, Carolina del Norte han desarrollado un novedoso sistema de impresión híbrida mediante la incorporación de un aparato de electrospinning (electrohilado) en una impresora de inyección de tinta usando una corriente eléctrica para generar fibras muy finas de una solución de PCL.

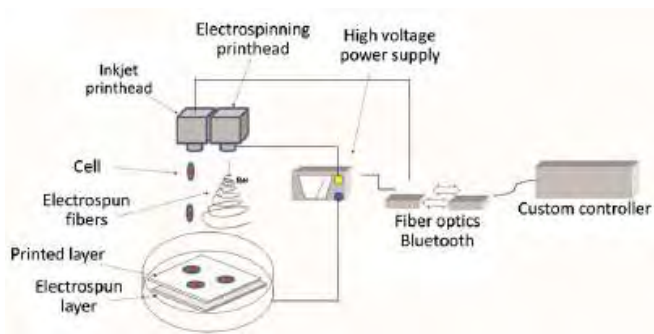


Fig. 4. Dibujo esquemático de este sistema de impresión híbrido.

Para el estudio, el electrospinning de fibras de policaprolactona (PCL) fue alternado con la impresión de inyección de tinta de condrocitos elásticos de conejo suspendidos en un hidrogel de fibrina-colágeno para fabricar una construcción de tejido de cinco capas. Mientras los materiales sintéticos aseguraron la fortaleza de la construcción, los materiales de gel natural proporcionaron un ambiente que promueve el crecimiento celular.

Estos investigadores han sido capaces de imprimir un hidrogel sobre una matriz de policaprolactona, que hace de base dura para la sujeción de las células, de manera que el "tejido" a imprimir puede alcanzar la forma y extensión que se desee.[2]

3.2. Preparación del Polímero:

Para la preparación del polímero de PCL se disuelve la solución con el polímero en acetona (disolvente usado para simular la producción de cuerpos cetónicos que se da en el hígado, y que más adelante las células no sufran rechazo por el disolvente). Se le añade un copolímero (Pluronic F127) para reducir la viscosidad y potenciar la hidrofiliidad del PCL.

4. RESULTADOS:

4.1. Estructura de las construcciones de impresión:

La aplicación de las capas de PCL mediante electrospinning proporciona el soporte perfecto para poder controlar el tamaño de los poros que son altamente necesarios para que el medio donde se desarrollan los condrocitos pueda

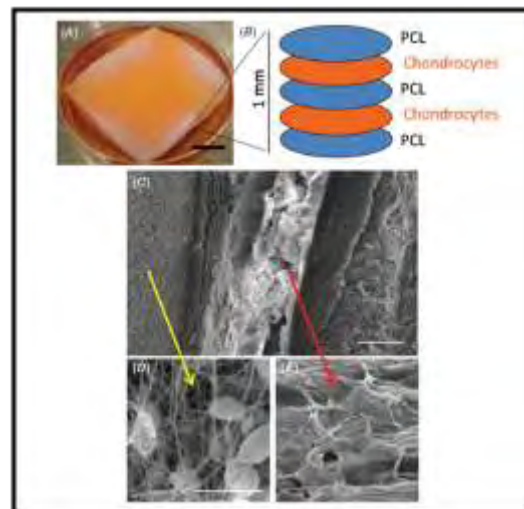


Fig. 5. Modificado de "Hybrid printing of mechanically and biologically improved constructs for cartilage tissue engineering applications". Resultado final del módulo de impresión (A,B). Vista al microscopio electrónico de las capas del ensamblado (C) y estructura del PCL (D) y los condrocitos (E). Se observan los poros de las diferentes capas

fluir, y renovarse, proporcionando un flujo de nutrientes y de eliminación de desechos. Para conseguir esto, se imprimen cinco capas, alternando PCL y condrocitos (para cada tipo de sustancia se usa un método de impresión distinto, para los condrocitos la impresión análoga a la de tinta y para el PCL "electrospinning"[4] que mediante una descarga eléctrica, se secretan nanofibras del material cargado de forma alineada. Se usa esta técnica ya que los polímeros de PCL tienen una gran resistencia mecánica). En la capa de condrocitos se añaden condrocitos, fibrinógeno y colágeno para el correcto desarrollo de los mismos. Las cinco capas forman un ensamblado de 1 mm de grosor. La capa de PCL se controla para formar estructuras organizadas con poros para la buena integración de las células de las capas adyacentes. El resultado se muestra en la figura 5.

4.2. Viabilidad y resistencia de la estructura:

Tras cuatro semanas de análisis se comprobó que los condrocitos se habían desarrollado y se había producido una matriz de cartílago funcional. Había mayor concentración de cartílago en los bordes debido a la falta de nutrientes (poca difusión) de las células del centro pero ya se están probando diseños con nanofibras que conecten la placa desde el centro a los bordes para facilitar la difusión. Se comprobó la regeneración y estabilidad in vivo de los ensamblajes de PCL y cartílago.

Los resultados de las propiedades mecánicas del ensamblado obtenido son positivas, responde favorablemente a mayores tensiones que los controles sin este diseño. Los híbridos de PCL y tejido son más fuertes y resistentes que las pruebas con alginato (polisacárido usado en odontología que se aplicaba para estos usos) [5].

5. CONCLUSIONES Y ESTUDIOS FUTUROS:

5.1. Conclusiones

La policaprolactona ha demostrado ser el componente clave para impulsar el desarrollo de técnicas como la impresión de condrocitos para desarrollar tejidos *in vitro* lo que nos hace plantearnos la posibilidad de que este polímero pueda servir de base para nuevos polímeros futuros que superen los pequeños defectos de difusión de nutrientes que presenta el PCL.

5.2. Investigación actual

Este avance puede permitir personalizar un polímero basado en PCL para implantes médicos no sólo de cartílago, sino de cualquier otro tejido que pueda regenerarse en una base polimérica (actual investigación).

Otra línea de investigación actual es la posibilidad de orientar los condrocitos y hacer un crecimiento direccional que optimizaría y mejoraría el rendimiento de la técnica actual.[2]



Jesús Lavado García, Alejandra Estepa Fernández, M^a Remedios Domínguez Flores y Clara Rodríguez Fernández (de izquierda a derecha) estudiantes de 2^o de Biotecnología en la universidad Pablo de Olavide.

REFERENCIAS

- [1] <http://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com.es/2012/11/policaprolactona-pcl.html>
- [2] Tao Xu, Kyle W Binder, Mohammad Z Albanna, Dennis Dice, Weixin Zhao, James J Yoo and Anthony Atala "HYBRID PRINTING OF MECHANICALLY AND BIOLOGICALLY IMPROVED CONSTRUCTS FOR CARTILAGE TISSUE ENGINEERING APPLICATIONS" *Biofabrication* 5 (2013) 015001 (10pp).
- [3] Freddys Beltrán, María L. Arnal, Alejandro J. Müller- DESARROLLO DE MEZCLAS BIODEGRADABLES Y COMPOSTABLES UTILIZANDO POLICAPROLACTONA Y ALMIDÓN DE YUCA. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* 2011; S3: 26-27
- [4] Camps Gámez, Roger "Electrospinning" de mezclas de poliláctida y policaprolactona. Control de la liberación de triclosán y de su efecto biocida" 15-01-2012. RECERCAT. Id.: 55505588
- [5] Rodríguez-Llimós, Ac, Bregni C, Y de los Santos Carvallido, C. "Microesferas de alginato para uso Dermatofarmacéutico" Departamento de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. *Ars Pharmaceutica*, 44:3; 215-224, 2003

Profesor, ¿qué es el Movimiento Browniano?

Miguel García Ortegón, Sara Pérez Muñoz, Pablo Rodríguez Núñez, Cristina Ulecia Morón

Resumen— En este artículo se da una explicación del movimiento browniano de manera amena y entretenida, y será explicado a modo de una clase de física, de la mano de un profesor y sus alumnos. El diálogo entre ellos nos ayudará a la comprensión del mismo, gracias a distintos ejemplos y aplicaciones. Además, el profesor hará un pequeño repaso histórico, recorriendo las diferentes aportaciones que se hicieron acerca de este movimiento a lo largo de la historia.

Palabras Claves— Agitación Térmica, Calor, Fluido, Movimiento Browniano, Partículas.

----- ◆ -----

Nos encontramos en una clase de Física. Los alumnos, aturdidos, no terminan de entender en qué consiste eso a lo que el profesor llama "Movimiento Browniano". Un alumno, con miedo a la reacción del profesor, levanta ligeramente su brazo, pidiendo así turno de palabra.

-Lo siento, pero realmente no entiendo cómo un señor hace prácticamente dos siglos fue capaz de deducir todo lo que usted nos está contando. ¿Podría explicar de nuevo en qué consiste? Creo que ninguno de nosotros ha comprendido bien de qué estamos hablando.

-Sí, este tema no resulta nada fácil, y menos aún cuando es la primera vez que sabéis de su existencia. Bien, empezaré contando una breve reseña histórica, para introducirlos en el contexto en el que este fenómeno fue descubierto.

>> Robert Brown fue un botánico escocés que observó, en sus múltiples experimentos, que minúsculas partículas de polen que flotaban en el agua seguían movimientos en zigzag. Este fenómeno podía observarse en granos de apenas una milésima de milímetro de diámetro usando el microscopio. Para que lo entendáis, puedo poneros el siguiente ejemplo: imaginad un hombre que ha estado consumiendo alcohol toda la noche. Llegará un momento en el que pierda parcialmente el control de su cuerpo, de manera que no sea capaz de coordinar sus movimientos correctamente. Pues bien, imaginad que el borracho, comienza a vagar sin rumbo por las calles de la ciudad. Podría decirnos que una partícula que sigue el movimiento browniano es básicamente ese mismo borracho que anda dando tumbos, sin caerse, como si se chocara continuamente con postes invisibles plantados al azar. [1]

-¿Pero realmente Brown fue capaz de descubrir todo eso en una dilución de polen únicamente? ¿Cómo podía saber que las partículas seguían ese movimiento en la realidad?- exclama una alumna algo confundida.

-Bueno, otras personas se dedicaron a investigarlo, y ellas tampoco entendían este fenómeno en su completitud. De eso precisamente quiero hablaros, de cómo evolucionó y se progresó en este extraño fenómeno. Brown repitió muchísimas veces su experimento, pero empleando otro tipo de compuestos, como partículas minerales, siendo capaz de demostrar que el movimiento era independiente de que la partícula tuviera o no vida. Llegó a la conclusión de que el movimiento lo seguía cualquier partícula en suspensión, siempre y cuando fuese lo suficientemente

pequeña. Como os podéis imaginar, las conclusiones de Brown fueron muy criticadas por otros científicos de la época, ya que este defendía que el movimiento era autoanimado, aunque no era capaz de explicarlo.

>> Aunque el tema fue olvidado durante un tiempo, muchos científicos, años más tarde, se preocuparon en rellenar esas "lagunas", intentando buscar y explicar las causas de este movimiento. Se consiguió afirmar de manera contundente que no se debía a diferencias de temperatura en distintas regiones del espacio. Weiner, otro científico, afirmó que no podría atribuirse este movimiento a causas externas, sino que tenía que estar relacionado con movimientos internos del fluido. Cantoni, poco después, lo atribuyó a movimientos térmicos en el líquido, y supuso que era una demostración experimental de la teoría mecánica del calor. A pesar de todo esto, todavía no llegaba a entenderse en qué consistía este movimiento, aunque sí se creía que estaba relacionado con el calor.

-Habla usted de la agitación térmica que sufren las partículas a causa del calor, ¿verdad? - inquiriere un joven sentado en la tercera fila.

-Eh, sí, las partículas se mueven con una energía cinética y eso se evidencia en la temperatura. Aun así, numerosos experimentos realizados en Europa concluyeron que el calor no podía ser el causante de este fenómeno. El químico inglés Ramsay o el botánico alemán Nägeli así lo demostraron. El francés Gouy también se interesó por este fenómeno, y concluyó que la vivacidad y agilidad de las partículas aumentaba a medida que el tamaño de la partícula era menor, de manera que esta vivacidad aumentaba cuando la viscosidad del líquido en el que se encontraban era inferior. Además, llegó a decir que el movimiento browniano era una violación de la segunda ley de la termodinámica.

>> Sin embargo, la relación entre la agitación térmica y el movimiento browniano es muy estrecha. Para que os hagáis una idea, lo que ocurre es lo siguiente: la partícula en la que observamos movimiento browniano se encuentra inmersa en un fluido, suspendida en él. Las partículas de dicho fluido están en continuo movimiento, pues si no fuera así su temperatura sería de cero absoluto, y chocan con nuestra partícula. Como ésta es muy pequeña, la gran cantidad de impactos que está sufriendo en todo momento hace que se mueva, siguiendo un patrón parecido a un zigzag tridimensional [Fig. 1] que es lo que llamamos movimiento browniano.

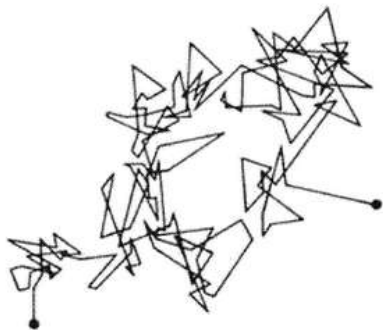


Figura 1: Representación esquemática movimiento Browniano

>> En parte es por esto por lo que costó tanto entender el movimiento browniano, porque tiene su base en que la materia se compone de elementos concretos y finitos en lugar de constituir un continuo, que era lo que en general se creía hasta entonces. Así, la introducción y aceptación del modelo atomista fue crucial para su estudio. En este sentido, cabe nombrar a Jean Baptiste Perrin, quien propuso que las cargas negativas del átomo se encontraban alrededor de la carga positiva. En esto se diferencia del modelo atómico de Thomson de “puddín de pasas”, según el cual la carga negativa se encontraría inmersa en la carga positiva. El modelo de Perrin obtuvo buenos resultados experimentales y le valió, junto con sus trabajos sobre el equilibrio de sedimentación, el Premio Nobel de Física de 1926.

- Bueno, parece que el movimiento browniano no es tan complicado como pensábamos.

- No cantéis victoria todavía. Hasta ahora sólo os lo he explicado cualitativamente, pero como casi todo en física el movimiento browniano tiene detrás un modelo matemático, y de él no os he hablado aún.

>> Un pionero de la explicación cuantitativa del movimiento browniano fue Albert Einstein, que con tan sólo 26 años fue capaz de predecir la distancia que una partícula suspendida en un fluido debía recorrer. Por otro lado, corroboró que el movimiento browniano efectivamente violaba la segunda ley de la termodinámica. Esto se debía a que dicho principio no tenía que interpretarse de manera absoluta, como otros científicos habían hecho hasta el momento, sino que solo se cumplía en promedio. De hecho, había que darle una interpretación estadística. [1], [2], [4]

-Me he vuelto a perder, profesor - exclama una alumna con desesperación.

El profesor, dirigiéndose a la pizarra, toma una tiza y responde:

-Supongamos que a tiempo cero una partícula suspendida en un fluido está en un punto llamado A. Tras cierto tiempo t , la partícula se encontrará en otro punto B, que se encuentra a una distancia d de A. Si volvemos a repetir el proceso, la partícula en ese mismo tiempo no se encontrará a la misma distancia d , si no a otra d_1 , y si se volviera

a repetir, se encontraría a otra distancia d_2 y así sucesivamente. Podríamos tomar entonces el cuadrado de estas distancias, y seríamos capaces de calcular el promedio de estos cuadrados, llamándolos $\langle d^2 \rangle$, siendo este el desplazamiento cuadrático medio - el profesor dibuja en la pizarra todo cuanto dice-. Resolviendo las ecuaciones matemáticas apropiadas, que no son objeto de estudio en esta asignatura, obtuvo una relación entre el diámetro del grano, el tiempo transcurrido, su desplazamiento, la viscosidad del agua y el número de Avogadro, gracias al coeficiente de difusión. Así, obtuvo la siguiente fórmula:

$$D = d^2 / 6t \quad (1)$$

>> Esto ayudó, tiempo después, a demostrar el modelo molecular y atómico de la materia. [4]

-¿Entonces podemos decir que el movimiento es totalmente azaroso? - interrumpe un alumno de la última fila.

-Sí. Además, las moléculas del fluido se mueven aleatoriamente y esto “empuja” a las partículas suspendidas en él. Básicamente, podemos enunciar el postulado de Einstein diciendo que en cualquier periodo corto de tiempo, cada partícula recibe un número aleatorio de impactos de intensidad y dirección aleatoria. Esta es la explicación que dio para el movimiento browniano.

El profesor, desde la pizarra, contempla a sus alumnos copiando rápidamente todo lo que acaba de exponer. Transcurridos unos instantes, una alumna alza su brazo, algo confundida, e inquiriere:

-¿Y esto para qué nos sirve en nuestro futuro?

Sus compañeros la observan callados, con miradas cómplices, haciendo notar que todos comparten su inquietud.

-Esa pregunta me la hacen año tras año los alumnos de Biotecnología - el profesor le sonríe a la alumna, que espera impaciente-. Para que os deis cuenta de la relevancia que podría tener este fenómeno en vuestra carrera, os voy a explicar brevemente una novedosa técnica que se está llevando a cabo, basándose en el movimiento browniano.

>> Esta técnica se llama NTA (del inglés *Nanoparticles Tracking Analysis*) y permite visualizar partículas de a partir de 15 nm y determinar su tamaño y concentración en una muestra original. Para ello, se utiliza un láser, con longitud de onda que oscila entre los 400 a 600 nm, que atraviesa una disolución con las partículas en suspensión, que se mueven con movimiento browniano. Como consecuencia del choque con las partículas, la luz del láser se desvía y puede observarse gracias a un microscopio. Todo ello nos permite visualizar las partículas de manera individual y directa. Esto es de especial utilidad en el diagnóstico de enfermedades como la aterosclerosis, enfermedades coronarias, diabetes o cáncer. En pacientes con estas enfermedades se encuentran niveles anormalmente altos de exosomas y microvesículas, que siguen este movimiento y que participan en la señalización celular, por lo que pueden ser utilizados para la detección de dichas enfermedades. [3]

>> Con esta técnica es posible, incluso, distinguir un tipo de exosoma de otro en una mezcla compleja usando marcadores de fluorescencia y distintos filtros, basándonos en el movimiento browniano - el profesor dibuja en la pizarra el montaje del experimento-. ¿Responde eso a tu pre-

gunta?

La alumna, algo intimidada, responde:

-Sí, gracias. ¿Podría darnos entonces una definición exacta del movimiento browniano?

El profesor suspira, y alzando la vista, como si tratara de recordar algo que tiene profundamente grabado en la memoria, cita:

-“Se denomina movimiento browniano al movimiento caótico o marcha aleatoria que experimentan las partículas microscópicas en un medio fluido como consecuencia de las colisiones con las partículas de dicho medio, que están sometidas a una agitación térmica continua. El movimiento browniano pone de manifiesto las fluctuaciones estadísticas que ocurren en un sistema incluso en equilibrio térmico.” [2]

El silencio solo es interrumpido por el sonido de los bolígrafos que se deslizan rápidamente sobre los folios. De repente, un alumno exclama:

-Creo que lo he entendido, y aunque se trata de un fenómeno microscópico, ¿podría asemejarlo a algún proceso que podamos ver a simple vista?

De nuevo, el experto en Física, sonrío e intenta buscar un ejemplo para que sus alumnos puedan llegar a entenderlo completamente.

-Imagina que estás en el cine. Estás sentado en el centro de la sala, de manera que el haz de luz procedente del proyector pasa por encima de tu cabeza. No sé si alguna vez te habrás dado cuenta de que es posible ver las partículas de polvo suspendidas en el aire. Si alzas la vista, verás que esas partículas de polvo, iluminadas por el haz, siguen prácticamente el mismo movimiento browniano.

>> También podría ponerte otro ejemplo: si adiciones tinta a un vaso de precipitados con agua [Fig.2], el movimiento que las partículas de tinta siguen en el fluido, es también como el movimiento browniano. O bueno, si preferís un enfoque más “biológico”, podría decir que el movimiento de una bacteria como *Escherichia Coli*, con flagelo, en ausencia de estímulos químicos, se puede aproximar al movimiento browniano.

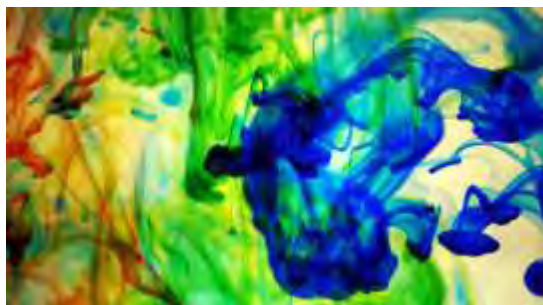


Figura 2: Tinta de colores en agua

A continuación, el profesor consulta su reloj, dándose cuenta de que solo quedan 5 minutos más de clase.

-¿Alguna duda más? - pregunta -. Seguiremos profundizando en este tema en las próximas clases, no debéis preocuparos.

- Profesor, ¿fue por esta deducción por lo que Einstein ganó el Nobel? - de repente, todos se giran para contemplar al alumno que se encuentra en la última fila.

-No, no fue por este descubrimiento. Einstein fue un hombre brillante, y polifacético.

Los alumnos ríen y suena el timbre, que indica el fin de la clase. El profesor recoge sus cosas y se despide hasta la próxima sesión.

REFERENCIAS

- [6] Web sobre el Movimiento Browniano: <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/13/htm/movzig.htm>
- [7] Web sobre el Movimiento Browniano y la contribución de Albert Einstein: <http://www.smf.mx/boletin/2005/Abr-05/Articulos-VRR.html>
- [8] Bob Carr, Patrick Hole and Phil Vincent, “Nanoparticle Tracking Analysis (NTA): Applications in Biotechnology”. Whiltshire, UK, 2012.
- [4] Jean Philibert, “One and a Half Century of Diffusion: Fick, Einstein, Before and Beyond”. University of Paris, 2006.
- (1) Ecuación de Einstein-Smoluchowski.

Figuras:

[Fig..1] http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/13/htm/sec_4.html

[Fig.2] <http://unrestrictedstock.com/projects/texture-volume-one-free-stock-photo-collection/>

BIOGRAFÍAS



Miguel García Ortegón realizó sus estudios obligatorios en el I.E.S. Vega del Guadalete, en Jerez de la Frontera.



Sara Pérez Muñoz llevó a cabo sus estudios en el I.E.S. Los Álamos, en Bormujos, un pueblo muy cercano a Sevilla.



Pablo Rodríguez Núñez cursó sus estudios académicos en el Colegio Alemán de Sevilla “Alberto Durero” en el cual permaneció desde 1997 hasta 2011. A día de hoy es maquetador de la sección MoleQla Guiri de la revista MoleQla de la Universidad Pablo de Olavide.



Cristina Ulecia Morón superó sus estudios secundarios en el I.E.S. Fray Bartolomé de las casas en Morón de la Frontera en el año 2011.

Todos ellos se matricularon el pasado año 2012 en el Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, y actualmente, tras superar con éxito el primer curso de la titulación, se encuentran cursando al segundo año.

Trabajo y potencia generado por el corazón en un ciclo cardíaco

Alejandro Salguero Jiménez

Resumen—Problema comentado sobre el trabajo realizado y la potencia desarrollada por el corazón (en concreto por el ventrículo izquierdo) en un ciclo cardíaco.

Palabras Claves— Cardíaco, Ciclo, Corazón, Potencia, Trabajo,

1. TRABAJO REALIZADO POR EL CORAZÓN

Estimar el trabajo que realiza el músculo cardíaco durante un ciclo a partir del siguiente gráfico que representa la presión sanguínea en el ventrículo izquierdo en función del volumen:

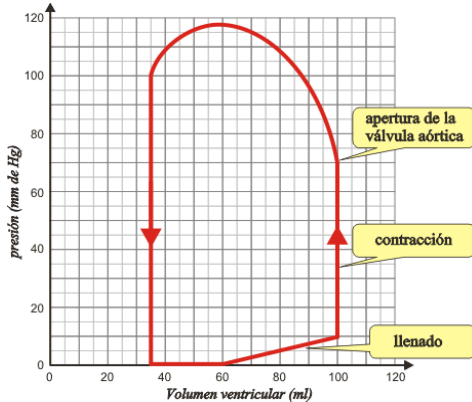


Fig. 1. Representación de la presión ventricular frente al volumen ventricular en un ciclo cardíaco completo [1].

Este gráfico nos representa la variación de presión con respecto al volumen del ventrículo izquierdo de un corazón humano durante un ciclo cardíaco. En la primera fase (fase de llenado) se observa como el ventrículo se llena de sangre (procedente de la aurícula izquierda) sin aumentar su presión hasta llegar a los 60 ml de volumen, punto en el que el ventrículo se empieza a extender hasta llegar a tener un volumen de sangre en su interior de 100 ml. En este punto, el ventrículo comienza a contraerse y por tanto aumenta la presión ventricular. Cuando esta presión ventricular sobrepasa la presión diastólica de la vena aorta se produce la apertura de la válvula aórtica. La presión ventricular sigue subiendo pero el volumen de sangre en el ventrículo descende ya que la sangre fluye hacia la vena aorta. Una vez que la presión del ventrículo cae por debajo de la presión de la vena aorta, la válvula de esta se cierra y se vuelve al comienzo del ciclo.

El ejercicio nos propone que calculemos el trabajo (W) que realiza el corazón a partir del gráfico que acabamos de comentar. Aunque no lo especifica, el trabajo que nos pide es en concreto el trabajo mecánico, que es el trabajo

asociado a los cambios de volumen y presión y que se define de la siguiente manera:

$$W = - \int_{V_i}^{V_f} PdV$$

Para poder calcular el trabajo deberíamos saber cómo varía la presión con respecto al volumen para cada una de las etapas del ciclo cardíaco (etapa de llenado y tras la apertura de la válvula aórtica, ya que en las demás no hay variación de volumen), ecuación que desconocemos. ¿Cómo podemos hallar entonces el trabajo realizado por el ventrículo izquierdo en un ciclo cardíaco?

Para esto nos vamos a basar en la definición matemática de integral definida, que nos dice que la integral de una función entre dos puntos del plano xy (puntos a y b) es igual al área de la región del plano xy delimitada por la función, las líneas verticales $x=a$ y $x=b$ y el eje x .

En otras palabras y particularizándolo para nuestro problema, el trabajo realizado por el ventrículo izquierdo es igual al área de la región delimitada por la representación del ciclo cardíaco. Esta área la podemos calcular a partir de la gráfica y de forma aproximada, obteniendo un área total de $6600 \text{ mmHg} \cdot \text{mL}$. Nos interesa obtener el trabajo en unidades del sistema internacional:

Obtenemos por tanto que el trabajo realizado por el

$$6600 \text{ mmHg} \cdot \text{mL} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \cdot \frac{1 \text{ m}^3}{1000 \text{ L}} \cdot \frac{1 \text{ atm}}{760 \text{ mmHg}} \cdot \frac{101325 \text{ Pa}}{1 \text{ atm}} = 0.88 \text{ J}$$

ventrículo izquierdo en un ciclo cardíaco es de 0.88 J .

2. POTENCIA DESARROLLADA POR EL CORAZÓN

Calcular a partir del resultado anterior la potencia desarrollada por el corazón al bombear sangre al circuito sistémico, teniendo en cuenta el número de pulsaciones por minuto de una persona. La potencia se define como el

trabajo realizado entre el intervalo de tiempo en el que se ha realizado:

$$P = \frac{W}{\Delta T}$$

Suponiendo que las pulsaciones por minuto de una persona en reposo son 80, obtenemos que:

La potencia que desarrolla el ventrículo izquierdo al bombear sangre es de 1.2 W.

$$W = 0.88 \frac{\text{J}}{\text{pulsación}} \cdot 80 \text{ pulsaciones} = 70.4 \text{ J}$$

$$P = 70.4 \frac{\text{J}}{60\text{s}} = 1.2 \frac{\text{J}}{\text{s}} = 1.2 \text{ W}$$

3. CÁLCULO DEL GASTO CARDÍACO

Se denomina gasto cardíaco (D) al volumen de sangre expulsado por un ventrículo por minuto. A partir de la gráfica obtenemos que en cada latido se expulsan 65 mL de sangre, ya que el volumen máximo es de 100 mL y el mínimo de 35 mL; por lo que:

$$D = \frac{65 \text{ mL}}{\text{pulsación}} \cdot \frac{80 \text{ pulsaciones}}{\text{minuto}} = 5.2 \frac{\text{L}}{\text{minuto}}$$

4. CÁLCULO DE LA RESISTENCIA PERIFÉRICA TOTAL

La resistencia periférica total se define como la resistencia que ejerce el total de los vasos sanguíneos de un organismo al flujo de sangre. Para simplificar su cálculo, vamos a suponer que el corazón bombea la sangre a través de un circuito cerrado. De esta manera podemos calcular la resistencia al flujo, que se define como el cociente entre la caída de presión y el caudal.

La caída de presión es la diferencia de presión que hay entre la sangre que sale del ventrículo y la sangre que llega a la aurícula. En estado de reposo esta diferencia de presión es de 100 mmHg aproximadamente para un corazón humano. El caudal (Q) ya lo hemos calculado como gasto cardíaco, con un valor de 5.2 L/minuto. Lo pasamos todo al sistema internacional:

$$\Delta P = 100 \text{ mmHg} \cdot \frac{1 \text{ atm}}{760 \text{ mmHg}} \cdot \frac{101325 \text{ Pa}}{1 \text{ atm}} = 13332.2 \text{ Pa}$$

$$Q = \frac{5.2 \text{ L}}{\text{minuto}} \cdot \frac{\text{m}^3}{1000 \text{ L}} \cdot \frac{\text{minuto}}{60\text{s}} = 8.66 \cdot 10^{-5} \frac{\text{m}^3}{\text{s}}$$

Una vez calculado el incremento de presión y el caudal podemos calcular de forma estimada la resistencia periférica total:

$$R = \frac{\Delta P}{Q} = \frac{13332.2 \text{ Pa}}{\frac{10^{-5} \text{ m}^3}{\text{s}}} = 1.53 \cdot 10^8 \text{ Pa m}^{-3} \text{ s}$$

Si queremos dar el dato según el criterio usado en medicina debemos usar unidades de resistencia periférica (URP), en las que la presión viene dada en mmHg, y el caudal en mL/s:

$$R = \frac{\Delta P}{Q} = \frac{100 \text{ mmHg}}{\frac{5200 \text{ mL}}{60\text{s}}} = 1.15 \text{ URP} (\text{mmHg mL}^{-1} \text{ s})$$

REFERENCIAS

[1] Web de Ricardo Cabrera, profesor del departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química de la Universidad de Buenos Aires: http://neuro.qi.fcen.uba.ar/ricuti/No_me_salen/TERMO/ter34.html



Alejandro Salguero Jiménez es estudiante de 2º curso de Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.



Molokai

Viva,



Una puerta abierta contra el VIH

Carlos J. Martos Rodríguez

Resumen— El Virus de Inmunodeficiencia Humano, VIH, es el causante del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida o SIDA –pandemia mundial y de complicado tratamiento–. Durante décadas, científicos de todo el mundo han tratado sin éxito aparente erradicar por completo al virus –cura funcional– o de encontrar una vacuna eficiente. Investigadores españoles, valiéndose para ello de los componentes del sistema inmune que actúan como caballo de Troya, las células dendríticas, y su capacidad para presentar antígenos y activar el sistema inmunológico. Se pretendía así inducir la respuesta inmune de manera eficiente presentando un antígeno del propio virus, que previamente se había usado para infectar este tipo de células –del propio paciente– aunque inactivados por calor. Otras investigaciones, realizadas en la Universidad de Rockefeller, se centraban en el uso de combinaciones de anticuerpos neutralizantes con un diseño optimizado para actuar contra el virus y evitar en la medida de lo posible que la presión evolutiva ejercida sobre el mismo genere mutantes a los que sea imposible neutralizar.

Palabras Claves— Anticuerpos neutralizantes, Células dendríticas, Cura, SIDA, VIH-1.

◆

1. INTRODUCCIÓN

El Virus de Inmunodeficiencia Humano, más conocido como VIH, es el causante a nivel mundial de una pandemia de difícil control, especialmente en los países subdesarrollados, que hace que las personas infectadas terminen desarrollando el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida o SIDA. Esta enfermedad está caracterizada por una lenta aparición, generalmente a los 6 o 7 años de producirse el primer contacto con el virus, acompañado de una progresiva disminución de los linfocitos T Helper (CD4+) lo que provoca una degeneración del sistema inmunológico de la persona afectada, haciéndola cada vez más susceptible a todo tipo de infecciones, sobre todo las causadas por patógenos oportunistas, hasta llegado el punto en el que el número de linfocitos totales en sangre es tan bajo que cualquier infección causa la muerte del individuo.

Desde el descubrimiento de la enfermedad y la alerta provocada allá por la década de los 80, han sido cientos de miles las personas que han fallecido a causa del SIDA. El virus logró dispersarse por los cinco continentes desde el punto del que se cree partió, África. Desde entonces han sido miles de millones de dólares y el esfuerzo de incontables investigadores los encargados de tratar de buscar una cura o una vacuna que permitan erradicar esta enfermedad y, aunque se han conseguido importantes avances, no han sido suficientes para evitar nuevas infecciones o curar completamente a los afectados. La elevada tasa de mutación del VIH sumada a su capacidad para permanecer en latencia dentro de la célula –escondido del sistema inmune– por largos periodos de tiempo hacen muy difícil encontrar fármacos que ataquen dianas en el mismo y que permitan la consecución del fin deseado. Por ello, hasta el momento muchos de los esfuerzos han ido

encaminados a ralentizar o, incluso, paralizar el avance de la enfermedad –en caso de producirse, no siendo siempre así–, evitando la disminución de los linfocitos T en los pacientes, fundamentalmente gracias a los antirretrovirales. La tasa de morbilidad y mortalidad más elevadas asociadas a esta enfermedad se dan, como no puede ser de otra forma, en los países subdesarrollados, donde las condiciones socio-sanitarias son peores, a lo que hay que añadir la menor capacidad para acceder a un tratamiento farmacológico adecuado.

A pesar de que se mantiene prácticamente controlada la pandemia –especialmente en los países desarrollados– y de que los antirretrovirales son cada vez más accesibles a los países del tercer mundo, todavía no se ha conseguido encontrar una vacuna plenamente eficaz. Es en este campo donde trabajan los investigadores españoles del Servicio de Enfermedades Infecciosas y Sida del Hospital Clínico de Barcelona, así como los de la Universidad de Rockefeller, cada uno de ellos siguiendo un procedimiento diferente pero con un mismo fin: acabar con el VIH.

2. DIFERENTES MÉTODOS, UN MISMO FIN

Los avances en el conocimiento del proceso infeccioso del VIH, así como de su etapa de latencia y de replicación, han permitido reconocer nuevas dianas que permitan el desarrollo de fármacos para controlar el avance de la enfermedad e, incluso, su posible erradicación. Los científicos del Hospital Clínico de Barcelona [1] han centrado sus investigaciones en una de las primeras etapas de infección: la entrada del virus en el sistema inmune. Una vez el virus logra entrar en el cuerpo, son las células dendríticas, presentadoras de antígeno, las que se van a unir al mismo sin fagocitarlo, y lo llevarán hasta los linfocitos en los órganos linfoides secundarios actuando como un verdadero

caballo de Troya. Allí el virus ya podrá infectar a los linfocitos T CD4+ y comenzar a expandirse por todo el organismo [1].

Aprovechando la importancia de las células dendríticas en el proceso infectivo, los investigadores españoles han diseñado la que podría ser una vacuna terapéutica que ha llegado hasta la fase clínica, esto es, ha comenzado a probarse en pacientes. Las personas sometidas a los test, que se encontraban siguiendo la terapia antirretroviral (TAR) demostraron que era posible reducir hasta un tercio la carga viral –en el 95% de los casos–. El método seguido fue el siguiente: se recogían estas células presentadoras de antígeno del propio enfermo y se contaminaban con parte del virus que le había infectado –aunque inactivado por calor–. Estas células se reincorporaban al paciente, donde migraban a los órganos linfoides secundarios y allí desencadenaban toda la respuesta [1]. Este hecho es de vital importancia, ya que consigue alertar al sistema inmune de la presencia del VIH, de forma que se evita en cierto modo la capacidad del virus para “ocultarse” y no ser atacado. Se vio la efectividad de esta vacuna terapéutica en combinación con la TAR en forma de disminución importante de la carga viral en hasta 12 semanas. Esto supone un progreso mayúsculo, ya que permitiría reducir o, incluso, retirar por un tiempo la terapia con antirretrovirales y recuperarla cuando los niveles de virus en el organismo volviesen a aumentar, con el consiguiente ahorro en fármacos y la mejora de la calidad de vida del paciente [1].

Por otro lado, los investigadores de la Universidad de Rockefeller, Klein F et al. [2] se centraron en los anticuerpos en sí mismos, más encaminados hacia la sueroterapia. De esta forma, usaron cócteles combinados con diferentes anticuerpos para conseguir efectos sinérgicos entre los mismos y evitar dos cosas: que el virus se escape por una respuesta inmune ineficiente y controlar en mayor medida su capacidad de mutar y dejar de ser reconocido por el organismo.

Este ensayo, a diferencia del anterior, se realizó en ratones humanizados, es decir, variantes cuyo sistema inmunológico se había adaptado para hacerlo lo más similar posible al del ser humano. Hay que resaltar que los anticuerpos monoclonales empleados, diseñados mediante técnicas de ingeniería genética, se modificaron para potenciar su carácter neutralizante [2].

Entre las ventajas de este método con respecto al uso de antirretrovirales convencionales, se encuentra el hecho de que neutraliza al virus de manera directa, elimina tanto al éste como a las células infectadas o aumenta la vida media de los anticuerpos empleados [2].

3. CONCLUSIONES

Para que en un futuro nos acerquemos hacia una erradicación total de las infecciones por VIH será necesario el esfuerzo, tanto económico como humano, por parte de los organismos pertinentes, principalmente los pertenecientes a los países desarrollados. La complejidad del virus y su capacidad de mutación hacen tremendamente complicado encontrar una cura o una vacuna que lo evite y salve muchas vidas, especialmente en los países del tercer mundo. Será necesario tener una visión más global del problema y combinar diferentes metodologías, a fin de encontrar el tratamiento que permita, en primer lugar, reducir al mínimo el progreso de la enfermedad y los costes farmacéuticos, y por último e idealmente, acabar con ella por completo. Harán falta con toda probabilidad muchos años aún de lucha incansable que ya dura varias décadas, pero que con posiblemente no se demorará muchas más.

REFERENCIAS

- [1] Felipe García, Nuria Climent, Alberto C. Guardo, Cristina Gil, Agathe León, Brigitte Autran, Jeffrey D. Lifson, Javier Martínez-Picado, Judit Dalmau, Bonaventura Clotet, Josep M. Gatell, Montserrat Plana, Teresa Gallart. “A Dendritic Cell-Based Vaccine Elicits T Cell Responses Associated with Control of HIV-1 Replication”, *Sci. Transl. Med.*, Vol. 5, Issue 166, p. 166ra2, Jan 2013, 10.1126/scitranslmed.3004682.
- [2] Klein F, Halper-Stromberg A, Horwitz JA, Gruell H, Scheid JF, Bournazos S, Mouquet H, Spatz LA, Diskin R, Abadir A, Zang T, Dorner M, Billerbeck E, Labitt RN, Gaebler C, Marcovecchio PM, Incesu RB, Eisenreich TR, Bieniasz PD, Seaman MS, Bjorkman PJ, Ravetch JV, Ploss A, Nussenzweig MC. “HIV therapy by a combination of broadly neutralizing antibodies in humanized mice”. *Nature*, Vol. 492, Issue 7427 p. 118-22, May 2012, doi:10.1038/nature11604.



Carlos J. Martos es alumno de cuarto curso del Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide. Fue estudiante de bachillerato en el I.E.S San José, en la provincia de Sevilla, y se matriculó de su titulación actual en el año 2009. Cursó un cuatrimestre académico en el extranjero, en la universidad North Central College en Naperville, Illinois, EEUU en el año 2011. Está interesado en la ciencia en general, las artes y la política y, especialmente, en la lectura.

Virus del SIDA y las nuevas tendencias terapéuticas

Alejandro Aguayo Orozco

Resumen—El virus del sida es una enfermedad aparecida en humanos a causa de la zoonosis que afecta a personas que hayan sido infectadas con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Este virus provoca la incapacidad del sistema inmune para enfrentarse a infecciones, así como a otras patologías, y su desarrollo es debido al descenso del nivel de Linfocitos T CD4+ por debajo de 200 células por mililitro de sangre. Muchas terapias se han usado a día de hoy para combatir esta enfermedad, incluyendo la búsqueda en paralelo de posibles vacunas contra la misma. Las terapias más usadas se han basado en atacar a las actividades características y principales de este virus, como afectar a su integración en el genoma o su transcripción inversa. Sin embargo, las tendencias actuales se dirigen a la inmunización por anticuerpos neutralizantes. blabla

Palabras Claves— VIH, Linfocitos T CD4+, Anticuerpo neutralizante, retrovirus, nanotecnología.

1. INTRODUCCIÓN

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana o VIH se trata de un microorganismo del género *Lentivirus*, debido a que posee un largo periodo de latencia o incubación. Este virus ataca al sistema inmunitario, fundamentalmente a los linfocitos T CD4+, aunque también infecta a monocitos/macrófagos, así como a células dendríticas entre otras en menor medida. El problema que ha supuesto el virus del Sida es la complejidad de su ciclo, ya que este en primer lugar sufre una etapa de latencia dentro del genoma del huésped para posteriormente volverse activo y comenzar la diseminación de la infección y la sintomatología.

El VIH es un retrovirus, lo que indica que su código genético está escrito en forma de ARN, por lo que para poder reproducirse en la célula huésped tendrá primero que traducirse a ADN para poder expresar sus proteínas y formar nuevos viriones. Las terapias que existen en la actualidad se han basado principalmente en tratar de inhibir estas actividades características del virus, como evitar la transcripción inversa para que no pueda seguir reproduciéndose en el organismo y mantenerlo en los niveles más bajos posibles. O por otra parte, atacar a la integración, consiguiendo una reducción en la integración del genoma patógeno en el genoma de la célula huésped. Entre estos fármacos podemos encontrar combinaciones de ellos que han demostrado ser efectivas en conjunto, pero que sin embargo por separado no era efectivos. Uno de los más comunes es el AZT que se encarga de inhibir la transcriptasa inversa impidiendo que el ARN del virus se copie hacia ADNc. Este se combina con otros fármacos para dar lugar al TARGA: *Terapia AntiRetroviral de Gran Actividad*.

Otra terapia que se está usando es la inmunización pasiva o sueroterapia, mediante la introducción de anticuerpos neutralizantes contra el virus, procedentes del suero sanguíneo de un individuo sano. Pero algunos trabajos demostraron que la presión selectiva sobre el virus

por parte de los anticuerpos provocaba un escape del mismo por aparición de variantes en un corto periodo de tiempo.

2. COMBINACIÓN DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES COMO TERAPIA CONTRA VIH

2.1. Uso de anticuerpos neutralizantes individuales y en combinación.

El tratamiento para la infección de VIH-1 era inefectivo hasta que llegaron los fármacos antirretrovirales, que fueron aplicados de forma combinada. A pesar de ello, el uso diario de esta medicación, los efectos secundarios y la resistencia que adquiere el virus a estos fármacos hace necesaria una continua búsqueda de modalidades terapéuticas complementarias.

En una investigación realizada se ha llevado a cabo el estudio del uso de anticuerpos neutralizantes combinados para comprobar su efectividad en individuos infectados. Para examinar los efectos de los anticuerpos neutralizantes en individuos infectados con VIH-1 se trataron ratones con monoterapias de cinco anticuerpos diferentes. La selección de estos anticuerpos se basó en su potencia y la capacidad de neutralización *in vitro*, además de que cada uno poseía un epítipo diana diferente. El anticuerpo 45-46^{G54W} es el más potente contra el sitio de unión CD4, PG16 tiene como diana la región del lazo V1/V2, PGT128 por su parte es un anticuerpo anti-V3 dependiente de glicanos. 10-1074 es una potente variante de otro anticuerpo previamente estudiado, el PGT121. Por último, el anticuerpo 3BC176 que reconoce un epítipo conformacional no descrito aun.

Durante el experimento se trataron algunos ratones infectados con monoterapias de estos anticuerpos por separado. A la semana del inicio de la terapia, los ratones tratados con PGT128 y 10-1074 mostraron una disminución importante de las copias de ARN de VIH-1 por mililitro.

El uso de PG16 y 45-46^{G54W} provocó también disminución en la cantidad de ARN del virus, pero en cantidades variables, y no supuso una enorme disminución. Mientras que en el caso de 3BC176 no mostró ninguna disminución.

A pesar, de que en algunos casos se produjera disminución de la cantidad de ARN del virus del sida, al cabo de un periodo de dos semanas se comprobó que no existían diferencias entre los ratones tratados con monoterapia de los ratones control (infectados pero sin tratamiento). Lo cual indicó que la monoterapia con estos anticuerpos solo resultó en una disminución transitoria de la infección. Además, en todos los casos, los cuales se estudiaron posteriormente para comprobar cuál fue la causa de esta reaparición de la infección, mostraron que se debía a la aparición de mutaciones recurrentes en el virus.

En experimentos anteriores a este, se estudió la posibilidad de usar anticuerpos en combinación para el tratamiento de infección contra el VIH, sin embargo se comprobó en la mayoría de los casos que solo producía efectos limitados en contra de la infección. Sin embargo, en este estudio se pensó que podría ser más potente el tratamiento combinado con estos anticuerpos debido a su potencia.

Para que el virus VIH escape de la terapia combinada de diversos anticuerpos neutralizantes se deben producir múltiples mutaciones simultáneas, lo cual incita a aumentar el número de epítomos contra los que se lucha, ya que la probabilidad de que se den las mutaciones necesarias para escapar al mismo tiempo es limitada.

En este estudio se llevó a cabo la combinación de los distintos anticuerpos para comprobar la efectividad de las mismas. Por una parte se realizó un tratamiento con la combinación de tres anticuerpos, en este caso PG16, 45-46^{G54W} y 3BC176; y por otra parte, el tratamiento con la combinación de los cinco anticuerpos.

En el caso del tratamiento con la mezcla de tres anticuerpos, se observó una disminución inicial de la infección en los ratones tratados. Sin embargo al cabo de unos días se produjo una reaparición de la enfermedad, hacia unos niveles de infección iguales o parecidos a los que tenían los ratones antes del tratamiento (Fig. 1).

Por su parte, el tratamiento con la combinación de los cinco anticuerpos, provocó la disminución de la infección al cabo de una semana después del inicio de la terapia. Sin embargo, en contraste con la monoterapia, o la terapia con la mezcla de tres anticuerpos, todos los ratones tratados con esta terapia llegaron a los niveles basales de la infección durante el tratamiento.

Esto hizo a los investigadores llegar a la conclusión de que el tratamiento con una combinación pentamérica de anticuerpos neutralizantes, permitía reducir la carga viral por debajo de los niveles de detección durante más de 60 días en los ratones humanizados, que habían sido infectados con VIH-1 (Fig. 2).

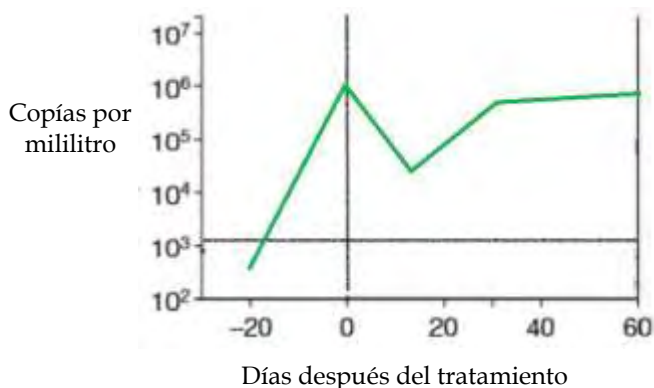


Figura 1. Infección tras el tratamiento con combinación de tres anticuerpos. En la gráfica se observa como existe un primer periodo en el que no se ha usado aun el tratamiento, y por lo tanto la infección está al máximo. Sin embargo, tras el tratamiento disminuye. Como se trata de la combinación de tres anticuerpos, el virus recupera su anterior capacidad de infección, y por lo tanto el número de copias de ARN por mililitro.

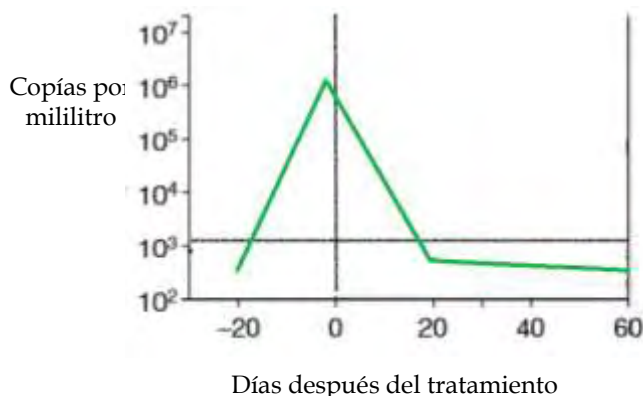


Figura 2. Infección tras el tratamiento con combinación de cinco anticuerpos. En este caso como se observa en la gráfica, tras el tratamiento con la combinación de cinco anticuerpos, se produce una regresión de la infección, y por ende una disminución de copias de ARN del virus, que se mantiene estable en el tiempo.

2.2. Uso de nanopartículas para liberación controlada:

Se ha comprobado la ventaja del uso de terapias antirretrovirales activas, como se ha señalado en el apartado anterior, sin embargo, los efectos secundarios asociados a un tratamiento prolongado aun continúan, de forma que una posible solución sería el uso de sistemas de liberación controlada basados en el uso de la nanotecnología. Esta tecnología basado en sistemas de liberación están siendo desarrollados para que se dirijan al virus como diana en los diferentes compartimentos de los tejidos, permitiendo así una mayor eficacia y seguridad, sin provocar efectos secundarios.

Las potenciales ventajas del uso de la nanomedicina sobre las terapias convencionales para tratar el VIH incluyen la capacidad de incorporar, encapsular o conjugar una variedad de fármacos que se dirijan de forma específica a las poblaciones de células que estén infectadas, ofreciendo así una posibilidad de evitar efectos secundarios debido a la liberación controlada y específica del fármaco.

Los tratamientos actuales contra el VIH exponen al cuerpo enter a múltiples fármacos en dosis elevadas, lo cual resulta en numerosos efectos secundarios, que a menudo limitan las posibilidades terapéuticas. El desarrollo de vehículos para la liberación de fármacos de forma específica en el tejido o célula en cuestión (célula diana) como forma de terapia para el sida mejorará la seguridad y la eficacia de los fármacos anti-VIH reduciendo las dosis necesarias para el tratamiento, así como los efectos secundarios que se produzcan.

3. CONCLUSIONES

Las posibilidades existentes hoy en día en lo que respecta al tratamiento contra el SIDA, se basan principalmente en uso de fármacos dirigidos contra las actividades del virus del VIH. Sin embargo, este tipo de tratamientos lo único que consigue es estabilizar en parte la expansión de la infección, con los consecuentes efectos secundarios provocados por el continuo tratamiento con estos fármacos, y la necesidad de tomar el tratamiento de por vida.

Como se ha comprobado según los recientes estudios la presión con anticuerpos neutralizantes sobre el virus puede resultar en una terapia mucho más efectiva, aun más cuando se trata de la combinación de varios anticuerpos neutralizantes, ya que disminuye las posibilidades de escape del virus debido a la baja probabilidad de que se produzcan mutaciones para todos los epitopos contra los que se dirige el tratamiento.

Pero a pesar de todos estos avances, aun sigue existiendo el problema de las dosis necesarias para el tratamiento,

que siguen sido demasiado elevadas, provocando enormes efectos secundarios. De forma, que el siguiente paso, a parte de llevar a la práctica el uso de tratamiento combinado de anticuerpo, sería el de realizarlo mediante vehículos transportadores, o nanopartículas, que permitirán la liberación del fármaco y tratamiento de la enfermedad de forma localizada, evitando los efectos secundarios, así como permitirá usar dosis más bajas que a parte de abaratar costes, aumenta la calidad de vida del paciente.

REFERENCIAS

- [1] Florian Klein et al. "HIV therapy by a combination of broadly neutralizing antibodies in humanized mice," *Nature*, vol. 492, pp. 118-124, Dec 2012, doi:10.1038/nature11604.
- [2] García F. et al. "Safety and immunogenicity of a modified pox vector-based HIV/AIDS vaccine candidate expressing Env, Gag, Pol and Nef proteins of HIV-1 subtype B (MVA-B) in healthy HIV-1-uninfected volunteers: A phase I clinical trial," *Epub*, Sep/Oct 2011, doi:10.1016/j.vaccine.2011.08.098.
- [3] Carmen G. et al. "The HIV/AIDS vaccine candidate MVA-B administered as a single immunogen in humans triggers robust, polyfunctional and selective effector memory T cell responses to HIV-1 antigens," *American Society for Microbiology*, Aug 2011, doi:10.1128/JVI.05165-11
- [4] Supriya D Mahajan et al. "Anti-HIV-1 nanotherapeutics: promises and challenges for the future", *International Journal of Nanomedicine*, Jul 2012, doi:10.2147/IJN.S25871



Alejandro Aguayo Orozco actual estudiante de Grado en Biotecnología de la Universidad Pablo de Olavide.

Células NK: tolerancia y enfermedades autoinmunes

Marta Martín Sánchez

Resumen— Las células natural killer (NK) son unos componentes del sistema inmune innato cuya principal función es la de eliminar células infectadas o tumorales. Sin embargo, también tienen la capacidad de regular la función de otras células del sistema inmune mediante la secreción de citoquinas y quimioquinas para activar las defensas. El efecto de las células NK debe estar bajo una regulación muy fina para evitar la aparición de enfermedades autoinmunes mediante pérdida de la tolerancia.

Palabras Claves— Autoinmunidad, Células NK, KIR, MHC, Tolerancia.

1. INTRODUCCIÓN

La función de las células NK se define gracias a la integración de señales que llegan a sus receptores de activación o inhibición y, dependiendo del tipo de señales que reciban, regularán las respuestas del sistema inmune adaptativo mediante la secreción de citoquinas o contacto célula-a-célula [1].

La regulación de la respuesta de las células NK es esencial para evitar fenómenos de autoinmunidad, debido a la estrecha relación de este tipo de células con el reconocimiento de células normales y mecanismos de tolerancia [1].

Los receptores que predominan en las células NK son los receptores KIRs (killer-cell immunoglobulin (Ig)-like). Estos receptores tienen como ligando las moléculas de MHC de clase I de las superficies de las células del organismo, de modo que pueden reconocer células normales y ejercen un importante efecto en la tolerancia. Cuando las células, debido a ciertas enfermedades como infecciones virales o tumores, pierden la capacidad de mostrar sus MHC de clase I, serán atacadas por las células NK [1], [2].

2. CÉLULAS NK EN LA TOLERANCIA INMUNE

Tal y como se ha referido antes, las células NK son capaces de atacar a las células del organismo que han sido infectadas y producir su citólisis mediante la secreción de determinadas sustancias como perforinas. Este mecanismo debe ser altamente regulado para evitar la muerte de células normales del organismo y la aparición de enfermedades autoinmunes.

La relación entre la tolerancia hacia el propio organismo y la función de las células NK se ha demostrado, entre otras formas, al observar que éste tipo de células se acumulan en órganos tolerantes como el hígado, los pulmones, el intestino o el útero [1].

En el caso del hígado, se encuentra una gran cantidad de células relacionadas con el sistema inmune innato como macrófagos, linfocitos T y células NK. Estas últimas pueden llegar a ocupar el 30-50% del total de linfocitos en el hígado. Esto se debe a que al hígado llega la sangre de

la vena porta, que contiene productos de la digestión junto a los cuales pueden viajar ciertos antígenos procedentes de organismos patógenos.

2.1. Educación de las células NK

Además del efecto lítico de las células NK en células infectadas o tumorales, existen otros mecanismos que son necesarios para que las células NK ejerzan su actividad. Uno de estos mecanismos es conocido como la educación de las células NK. Este sistema va a permitir que las células NK adquieran tolerancia hacia lo propio y por tanto, que no ataquen a las células del organismo.

Este mecanismo se lleva a cabo gracias al reconocimiento de los MHC de clase I, es decir, sólo las células NK que sean capaces de reconocer de forma específica a los MHC de clase I del organismo gracias a los receptores de inhibición KIR van a poder madurar y adquirir la capacidad de lisar células anómalas. De esta forma, los linfocitos NK que no tengan receptores para algún MHC propio no van a madurar y, por tanto, serán tolerantes hacia las células propias. Este sistema de aprendizaje se basa en la integración de señales con distinta fuerza, y por ello debe ser altamente regulado.

Ciertas enfermedades como infecciones o tumores son capaces de desestabilizar el mecanismo de tolerancia de las células NK, lo que conlleva la aparición de enfermedades autoinmunes [1].

2.2. Subconjuntos de células NK

La definición de células NK se basa en su función de lisis de células anormales y la producción de interferón γ sin activación previa. Sin embargo, debido a lo descrito anteriormente, se sabe que estas células son capaces de regular a otras células del sistema inmune (tanto innato como adaptativo) mediante la secreción de señales como citoquinas. Por ejemplo, las células NK son capaces de promover la maduración de las células dendríticas, potenciar la función de linfocitos T ayudantes y diferenciarlos hacia Th1. De igual forma, son capaces de matar macrófagos sobrestimulados, linfocitos T autorreactivos o células dendríticas inmaduras [1].

Debido a la heterogeneidad de las células NK, éstas pueden subdividirse en distintos conjuntos dependiendo de su patrón de secreción de citoquinas (como en el caso de los linfocitos T) o por sus marcadores de superficie. Estos subconjuntos de células NK se han encontrado en distintas zonas del organismo, de lo que se deriva que el microambiente al que están expuestas las células, es decir, la red de señales que reciben, son esenciales para la diferenciación de estos conjuntos.

Por ejemplo, entre los distintos conjuntos se pueden encontrar CD56^{dim}CD16⁺ en la sangre periférica, que se caracterizan por una alta expresión de perforina y receptores de membrana y una casi nula producción de citoquinas. Este subconjunto es capaz de ejercer una gran acción citotóxica frente a células cancerígenas o infectadas por virus. Otro subconjunto es CD56^{bright}CD16⁻, que se encuentran en órganos linfoides secundarios. Éstos se caracterizan por una alta producción de las quimioquinas CD62L y CCR7 y un bajo efecto citotóxico. Por ello, este subconjunto se encarga de la regulación de otras células del sistema inmune.

De igual forma que los linfocitos T ayudantes, las células NK pueden dividirse en dos grandes grupos según su patrón de secreción de citoquinas: NK1 y NK2. Las células NK1 producen sobre todo IFN- γ , y las NK2 producen IL-4, IL-5 e IL-13 [1].

3. MAL FUNCIONAMIENTO DE LOS RECEPTORES DE CÉLULAS NK Y AUTOINMUNIDAD

Como es lógico, el reconocimiento entre receptor y ligando debe ser específico y estar altamente regulado, de forma que un fallo en este proceso puede conllevar la aparición de determinadas enfermedades. En el caso de las células NK, se producirían enfermedades autoinmunes.

Una de las familias de receptores más importantes para la correcta función de las células NK es la familia de moléculas de señalización de activación linfocítica o SLAM, cuyos ligandos son las proteínas asociadas a SLAM, o SAP. Estas moléculas se unen con alta afinidad a sus receptores y permiten la transducción de señales. Las SAP son capaces de estimular la activación de las células NK, de forma que tienen un papel esencial en la regulación de estas células.

Fallos en la función de los receptores SLAM o de sus ligandos pueden conducir a la generación de respuestas autoinmunes. Por ejemplo, en pacientes con la enfermedad de Crohn se ha encontrado un aumento de la expresión de receptores SLAM en monocitos y macrófagos, lo que conduce a una inflamación del intestino [1].

4. FUNCIÓN DE LAS CÉLULAS NK EN ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Debido a su papel regulador, las células NK pueden ejercer un papel protector en el caso de que el organismo padezca una enfermedad autoinmune. De esta forma, es capaz de controlar el sistema inmune mediante la inhibición de la proliferación y activación de linfocitos T auto-

rreactivos y de macrófagos, o la eliminación de células dendríticas inmaduras. Las células NK2 secretan dos tipos específicos de citoquinas, como son las IL-5 e IL-13, que ejercen una función inhibitoria sobre los linfocitos T autorreactivos, impidiendo el ataque hacia células sanas del organismo. Es por ello que una deficiencia de células NK o un descenso de su actividad provoca un aumento de linfocitos T autorreactivos activados, incrementa la cantidad de macrófagos activos y produce la activación de CTL (linfocitos T citotóxicos). Todas estas células producirán una gran cantidad de citoquinas inflamatorias como IFN- γ , TNF- α o IL-6 que producen daños en los tejidos [1].

La principal función de las células NK en cuanto a las enfermedades autoinmunes es la regulación de los linfocitos T autorreactivos. Dependiendo de cuál sea su método de acción, pueden promover su activación o inhibirla. En el caso de promoverla, esto se puede hacer de distintas maneras: (1) maduración de células dendríticas, (2) potenciación de la función de células T ayudantes y su diferenciación a células Th1, (3) activación directa de linfocitos T autorreactivos mediante la presentación de antígenos por células NK, (4) activación de linfocitos T citotóxicos, (5) aumento de la producción de anticuerpos en linfocitos B y (6) interacción con macrófagos o monocitos en focos de inflamación para su activación y amplificación de la respuesta inflamatoria.

Además, las células NK son capaces de proteger directamente al organismo mediante la eliminación de células o su inhibición: (1) las células NK pueden lisar a células dendríticas y linfocitos T directamente o mediante la inducción de la apoptosis, (2) NK2 secreta citoquinas IL-5 e IL-13 que inhiben la función de linfocitos T autorreactivos, (3) suprimen la respuesta de linfocitos T mediante la producción de inmunosupresores como TGF- β o IL-10, (4) inhiben la proliferación de los linfocitos T mediante la sobreexpresión del inhibidor de ciclo celular p21, que para el ciclo celular en G0/G1, (5) regulación de células T mediante reguladores específicos como NKT o linfocitos T reguladores [1].

5. CONCLUSIONES

Las células NK tienen un papel central en el mantenimiento de la homeostasis del sistema inmune y en la respuesta autoinmune. Debido a los distintos ambientes que se encuentran en el organismo, existen distintos subconjuntos de células NK que tienen funciones específicas en distintas células inmunes. Un mayor conocimiento de los mecanismos de acción de éstas células NK y su diferenciación en diferentes subgrupos pueden permitir diseñar nuevos fármacos específicos para ciertas poblaciones desreguladas que provoquen enfermedades autoinmunes.

REFERENCIAS

- [1] Zhiqiang Tian, M. Eric Gershwin, Cai Zhang, "Regulatory NK cells in autoimmune disease", *Journal of Autoimmunity*, vol. 39 pp. 206-215, 2012.
- [2] Diana Torres-García, Rodrigo Barquera, Joaquín Zúñiga, "Receptores de células NK (KIR): Estructura, función y relevancia en la susceptibilidad de enfermedades", *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de México*, vol.21, nº1, pp. 57-65, Enero-Marzo 2008.



Marta Artín Sánchez, estudiante de 4º año del Grado de Biotecnología de la Universidad Pablo de Olavide.

Anticuerpos que traen recuerdos

Lourdes González Bermúdez

Resumen— El Alzheimer es la enfermedad neurodegenerativa más común en nuestros días. Una de los principales mecanismos moleculares asociados a esta patología es la acumulación de péptidos β -amiloides. Actualmente no existe una cura total pero durante la pasada década, estrategias basadas en la inmunoterapia han ido surgiendo con unos resultados muy esperanzadores. En la actualidad, la mayoría de dichas investigaciones buscan desarrollar anticuerpos manipulados que sean capaces de disminuir los efectos secundarios de las terapias clásicas basadas en el uso de anticuerpos además de reducir la pérdida de memoria en pacientes con Alzheimer.

Palabras Claves—Alzheimer, inmunoterapia pasiva, anticuerpos modificados, péptidos β -amiloides .

1. INTRODUCCIÓN

El Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa muy frecuente en la actualidad. Se trata de una patología que cursa con pérdida de memoria y deficiencia en las funciones cognitivas. Los mecanismos moleculares intrínsecos que afectan de manera perjudicial al tejido cerebral abarcan tanto, la acumulación de proteína TAU fosforilada que forma una serie de haces fibrilares, como la generación de placas compuestas por el péptido β -amiloide. Este péptido deriva de un incorrecto procesamiento de una proteína de membrana denominada proteína precursora amiloide (APP). La hidrólisis de la misma llevada a cabo por la dos proteasas conjuntamente y en sitios específicos conlleva la formación de péptido β -amiloide. Una vez que se ha generado este péptido en elevadas concentraciones, se produce su posterior agregación y precipitación lo que acaba causando daños irreversibles en el tejido neuronal. [1]

La enfermedad actualmente no tiene cura, sin embargo, la inmunoterapia se está alzando como un posible tratamiento futuro. La primera prueba que señalaba a los anticuerpos como agentes potencialmente terapéuticos, se observó cuando al dirigirlos contra los aminoácidos de las regiones N-terminal del péptido β -amiloide, la formación de los fibrillas amiloides se inhibían o se disgregaban las previamente formadas.

A continuación, los investigadores llevaron a cabo diferentes experimentos con la intención de comprobar si realmente, los prometedoros resultados anteriores (obtenidos in-vitro) se podían extrapolar a organismos (in vivo). Para lo cual se realizaron dos aproximaciones diferentes [2]:

a. Inmunización activa: se introducen fibrillas de amiloide- β en el organismo que prevenían la formación de placas amiloides en el cerebro de ratones transgénicos que sobreexpresaban APP. Además el uso de este tipo de "vacuna" eliminaba las lesiones preformadas en ratones ancianos.

b. Inmunización pasiva: se genera protección a corto plazo mediante la generación de una respuesta inmune gracias al uso de anticuerpos frente al antígeno en cuestión. En el caso del Alzheimer se inyectaron anticuerpos anti péptidos β -amiloide directamente en el cerebro. Como resultado, se produjo una rápida disociación de los depósitos de β -amiloide, lo que supone una mejora de las funciones cognitivas.

Sin embargo, a pesar de que ya existen anticuerpos monoclonales en fase de comercialización (bapineuzumab o solenazumab), el principal problema a la hora de tratar el Alzheimer mediante los mismos, reside en la dificultad que tienen para atravesar la barrera hematoencefálica (sangre-cerebro). Esto incluye tanto el transporte de moléculas terapéuticas hasta el cerebro como la eliminación

de los complejos antígeno-anticuerpo desde el cerebro hasta la sangre.

Es inevitable preguntarse, si es posible idear alguna forma de sortear esta barrera que nos impide tener un éxito absoluto en terapias que a priori presentan tantas posibilidades. Muchos grupos de investigación se han hecho esta misma pregunta y han sido capaces de diseñar distintos métodos muy interesantes que nos animan a seguir teniendo esperanzas en este tipo de tratamiento. A lo largo del artículo mostraremos algunos ejemplos que nos van a servir para ponernos al día de los últimos avances en esta área de la inmunología.

2. MECANISMO DE ACTUACIÓN DE LOS ANTICUERPOS ANTI B-AMILOIDE

2.1. Efecto directo

La disolución o neutralización de los oligómeros de β -amiloides es consecuencia directa de la unión de los anticuerpos a los mismos. Los anticuerpos que actúan de esta forma son aquellos que se unen a la región N-terminal del péptido β -amiloides. [3]

2.2. Efecto indirecto

Los anticuerpos no actúan directamente en la disgregación de las fibrillas sino que promueven su destrucción mediante la activación del sistema inmune, una vez unidos a los péptidos β amiloide. [3]

2.3. Efecto periférico

Los anticuerpos secuestran a los péptidos β -amiloides circulantes y cambian el equilibrio entre la concentración sanguínea y la neuronal, incrementando la salida de péptidos β -amiloides desde el cerebro al plasma. [3]

3. ANTICUERPOS MODIFICADOS PARA EL TRATAMIENTO DEL ALZHEIMER.

3.1. Anticuerpos de cadena sencilla, fragmentos de unión al antígeno (Fabs) y dominios variables.

Los anticuerpos de cadena sencilla son los más comunes en la inmunoterapia. Proviene de la fusión de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de las inmunoglobulinas a las que se le añade un péptido conector que las mantiene unidas.

Los Fabs presentan un menor tamaño que los anteriores. No sobrepasan los 50kDa, son fáciles de obtener y más estables que los anticuerpos de cadena sencilla.

Finalmente, los dominios variables (dominios V) son regiones de anticuerpos únicos que derivan de la cadena pesada o de la cadena ligera variable. Son los más pequeños (en torno a 11 kDa) y los menos efectivos a la hora conseguir la disociación de las placas seniles. [3]

3.2. Anticuerpos biespecíficos.

Un método elegante e interesante que permite a los anticuerpos evitar las limitaciones impuestas por la barrera hematoencefálica es el conocido como "caballo de troya".

El enfoque del "caballo de troya" se basa en la ingeniería de proteínas. Se trata de modificar los anticuerpos, mediante distintas fusiones y alteraciones durante el diseño de los mismos. En general el protocolo es el siguiente. Se fusionan anticuerpos monoclonales específicos de transportadores endógenos de la barrera hematoencefálica, junto al anticuerpo contra la proteína de interés. Un ejemplo de un mecanismo típico de un caballo de Troya aparece en la figura 1. Para el caso del Alzheimer se suele usar anticuerpos monoclonales específicos para la transferrina, un transportador de la barrera. Este protocolo permite el paso del anticuerpo y su liberación dentro del cerebro, mediante una posterior reducción de la afinidad entre el anticuerpo y los receptores de transferrina.

Los anticuerpos así diseñados son conocidos como anticuerpos biespecíficos que se pueden definir como anticuerpos quiméricos capaces de reconocer dos antígenos distintos. [4]

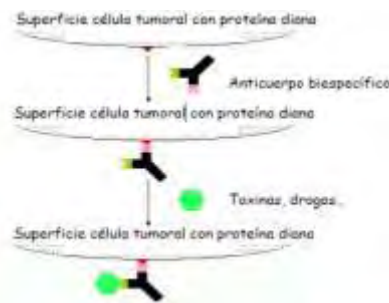


Fig. 1. Estrategia típica de un "caballo de Troya"

3.3. Intracuerpos.

Los intracuerpos hacen referencia a aquellos fragmentos de anticuerpo que se expresan en el interior de la célula y actúan contra alguna molécula intracelular. En el desarrollo de nuevas terapias contra el Alzheimer, se han usado intracuerpos que se unen al sitio de corte de la β -secretasa impidiendo que la hidrólisis del APP sea por ese lugar concreto y produciéndose en otras regiones inocuas gracias, por ejemplo, a la α -secretasa.

4. INGENIERÍA DE ANTICUERPOS

Ahora que ya conocemos algunos de los anticuerpos modificados que actúan disgregando los depósitos de β -amiloides, podemos profundizar en la forma en la que estos se producen a escala de laboratorio para su posterior escalado industrial.

Una de las técnicas más usadas para la obtención de este tipo de anticuerpos es la conocida como *despliegue de fagos*. Consiste en la producción de fragmentos de proteínas en bacteriófagos filamentosos para la elaboración de anticuerpos de cadena variable sencilla. Para ello se clona el fragmento de interés fusionado con una proteína de cápside expuesta en la superficie del virión. De tal forma que al producirse nuevas partículas virales, estas presenten en su superficie el fragmento de la proteína que se clonó. Al clonar los fagos, cada secuencia va a presentar ligeras diferencias generadas al azar. Por lo tanto, se obtendrá una población de fagos de manera que cada uno *despliega*

una proteína diferente en su cápside. Esta población se puede seleccionar por su unión a un antígeno específico y así obtener los fagos que expresan las moléculas con mayor afinidad a la molécula blanco. Estos fagos se recuperan y se multiplican para obtener cantidades útiles de virus que se adhieren a un sustrato específico. El sustrato específico en el caso del Alzheimer podrá ser tanto el epítipo lineal como el oligomero de β -amiloide. En la figura 2 podemos apreciar un esquema explicativo de esta técnica.

Otra técnica usada, en este caso para la generación de anticuerpos Fab, es el uso de hibridomas. Una vez que los anticuerpos monoclonales obtenidos a partir de líneas celulares de hibridomas pueden ser convertidos en fragmentos de anticuerpo.

Finalmente cabe mencionar que otra alternativa para generar anticuerpos de dominio único. Se trata de la producción anticuerpos recombinante mediante el uso de aniamles (en concreto de llamas). Las llamas son inmunizadas con el antígeno de interés. Se extrae la muestra de sangre periférica. En el plasma tendremos anticuerpos contra el antígeno. Podemos obtener a partir de ellos el cDNA, el cual es amplificado por RT-PCR y clonado en vector de fagos para el posterior *despliegue de fagos*, que hemos explicado anteriormente. [3]

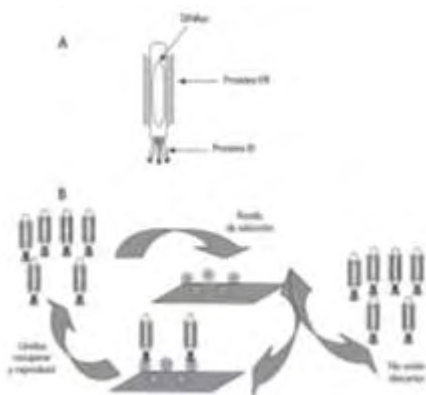


Fig. 2. Técnica del despliegue de fagos.

5. CONCLUSIONES

La década pasada ha visto un progreso importante en la inmunoterapia contra el Alzheimer. Este desarrollo ha sido paralelo al de la biotecnología con fines terapéuticos. Como hemos explicado, el uso de organismos modificados genéticamente o el uso de ingeniería genética está implícito en todas las formas de tratar el Alzheimer desde la inmunología. Para poder llevarlas al mercado quedan aún significativos detalles que mejorar (el paso de la barrera hematoencefálica o la reducción de efectos secundarios). Para resolverlos, la biotecnología tendrá un importante papel: la puesta a punto de *rAVV systems* (vectores virales basados en adenovirus). Parece claro que todas las investigaciones futuras basadas en terapias inmunológicas que buscan paliar la enfermedad de Alzheimer se dirigen hacia el uso de estos sistemas virales. [5]

REFERENCIAS

- [1] D. Voet, J. G. Voet, C. W. Pratt *Fundamentos de Bioquímica: la vida a nivel molecular*. Madrid. Editorial Médica Panamericana, pp. 171-173
- [2] H. L. Weiner, D. Frenkel, "Immunology and Immunotherapy of Alzheimer's disease", *Nature Reviews*. Mayo 2006. Volumen 6, pp 404-416.
- [3] R. Robert, K.L Wark. "Engineered Antibody Approaches for Alzheimer's disease immunotherapy", *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2012. Volumen 526, pp 132-138.
- [4] W. M. Pardridge, R.J. Boado. "Reengineering Biopharmaceuticals for Targeted Delivery Across the Blood-Brain Barrier", *Methods in Enzymology*. 2012. Volumen 503, pp 269-292.
- [5] D. A. Ryan, M. A. Mastrangelo, W. C. Narrow, M. A. Sullivan, H. J. Federoff, W. J. Bowers. "A β - directed single-chain Antibody delivery via a serotype-1 AAV Vector improves learning behavior and pathology in Alzheimer's disease mice", *Molecular therapy*. Agosto 2010. Volumen 8, pp 1471-1481.



Lourdes González Bermúdez es estudiante de 4º de Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla. Desde 2010 a 2012 ha realizado durante los meses de verano estancias de investigación en laboratorios extranjeros. Actualmente es alumna interna en el Área de Fisiología Vegetal del Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular de la mencionada Universidad.

La isomería del organismo

Alberto de la Iglesia Rodríguez

Resumen—En el siguiente artículo se hablará de casos concretos de isomería en el cuerpo humano, viendo distintas funciones y propiedades, y también sobre cómo se pueden usar los isómeros en ámbitos de investigación y profesionales.

Palabras Claves—Enantiómeros, Isomería, Mezcla racémica, Organismo, Visión.

1. INTRODUCCIÓN

Imagina una situación en la que, tras despertarnos por la mañana, nos damos cuenta de que todo está al revés.

Tus manos izquierda y derecha se intercambian, los libros empiezan por el último capítulo y terminan por el primero, las aspas de tu batidora giran en sentido contrario, incluso el portero de tu bloque te guiña el ojo derecho en lugar del izquierdo al salir. ¿Qué pensaríamos? ¿Sería todo tan raro como parece? Bajo el punto de vista de nuestro día a día todo parecería muy extraño, pero en este artículo se demostrará que no son tan raros este tipo de cambios a nivel molecular. Hablamos de los estereoisómeros.

Se define como estereoisómeros a las moléculas con la misma composición química pero distinta distribución espacial. A continuación, se comentarán algunos casos concretos de estereoisomería que se dan en el ser humano, mostrando distintas funciones y utilidades de estos compuestos.

2. ESPECIFICIDAD ENZIMÁTICA

Una de las propiedades más importantes de los isómeros es la capacidad que tienen para reaccionar específicamente con ciertas moléculas, como es el caso de las enzimas. Para explicar la especificidad enzimática se usará como ejemplo la fermentación láctica.

El ácido láctico existe como dos estereoisómeros (o enantiómeros), es decir, presenta isómeros dextrógiros y levógiros. El ácido láctico se produce en la fermentación láctica en varios órganos del organismo. En las células que realizan la fermentación (musculares cardíacas, renales, pulmonares, hepáticas, etc) se produce la reducción del ácido pirúvico mediante NADH, reacción catalizada por la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), para obtener ácido (S)-láctico. Los sitios de unión enzima-sustrato se muestran en la Figura 1. El NADH ataca la cara *Re* del grupo carboxilo del piruvato, por lo que solamente se produce el (S)-Lactato en la reacción, y no su forma R. En la reacción inversa, y debido a esta especificidad sustrato-enzima, la enzima lactato deshidrogenasa es específica solo para los sustratos de (S)-Lactato, ya que el (R)-Lactato, si se coloca en el centro activo de la enzima, tendría un $-CH_3$ en lugar de un $-CH$ puesto al NAD^+ , que

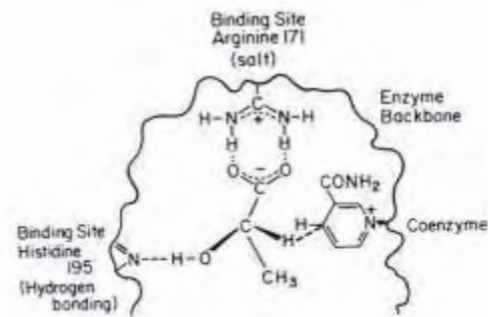


Figura 1. Reducción del piruvato en presencia de NADH. Se muestra la enzima LDH.

no puede ser oxidado [1].

3. ISOMERÍA EN EL PROCESO DE VISIÓN

La isomería cis-trans juega un papel clave en el proceso de visión [2]. El β -caroteno es un pigmento de color amarillo anaranjado, precursor biológico de la vitamina A. Esta vitamina A se convierte en una sustancia clave en el proceso de visión, el cis-retinal, como se muestra en la Figura 2(a).

Las células bastonillos de la retina tienen un pigmento rojo llamado rodopsina, compuesto por el 11-cis-retinal combinado con el centro activo de la proteína opsina. Cuando la rodopsina absorbe luz visible, el complejo cis-retinal se convierte en el isómero trans. Este evento ocurre mediante una serie de transformaciones fotoquímicas de la rodopsina que conllevan a la aparición de diversos fotointermediarios. El complejo formado por trans-retinal y opsina se llama metarrodopsina II, y es menos estable que el anterior complejo, por lo que se disocia rápidamente en trans-retinal y opsina. Este cambio en la geometría desencadena una respuesta nerviosa de las células de los bastonillos que es transmitida al cerebro, lo que percibimos como visión. La enzima retinal isomerasa, en presencia de luz, es la que permite que el proceso de visión sea un ciclo continuo, convirtiendo el trans-retinal en el isómero inicial 11-cis. El Ca^{2+} es mediador en la adaptación de las células a los distintos niveles de luz. El ciclo de visión se puede ver en la Figura 2(b).

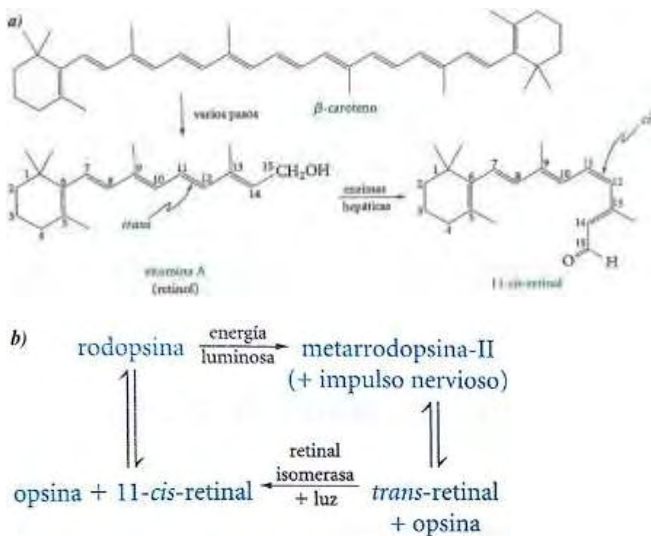


Figura 2. Se muestra la transformación del retinol a 11-cis-retinal (a) y un esquema del proceso de visión (b).

4. PERMEABILIDAD MITOCONDRIAL

En la mitocondria, la isomería juega un importante papel en la permeabilidad de la membrana. En la membrana mitocondrial, los transportadores que contienen los aminoácidos prolina y cisteína, como los ANT (adene nucleotide translocase), son dianas de las ciclofilinas D (CyP-D, una peptidil-prolil cis-trans isomerasa) y los reguladores o componentes del poro de transición de la permeabilidad (PTP) mitocondrial. Estas isomerasas actúan transformando la prolina de conformación trans a cis en los transportadores de membrana, induciendo un cambio en la conformación de ANT por el Ca^{2+} y haciendo que se abra el poro de transición de la permeabilidad mitocondrial. De este modo, Ca^{2+} induce el cambio de conformación, aparentemente asociado con la apertura del PTP, pero requiere de la actividad de la peptidyl-prolyl cis-trans isomerasa para ello [3].

5. APLICACIONES DE LOS ISÓMEROS POR PARTE DEL SER HUMANO

Conocer el funcionamiento y las características de los estereoisómeros permite a las personas utilizar actualmente esta isomería en su provecho.

5.1. Datación de muestras orgánicas

Los aminoácidos son sustancias que también presentan estereoisomería. Los aminoácidos esenciales y no esenciales pueden existir tanto en forma D como en forma L, aunque los esenciales son más activos en su forma L al tener mayor capacidad de absorción en el intestino que las formas D, y más numerosos debido a la especificidad estereoquímica de las enzimas que utilizan sólo los enantiómeros L para formar proteínas.

Esta isomería D y L es una característica de los aminoácidos muy útil para la datación de muestras orgánicas. El

proceso es un método de datación química llamado racemización de aminoácidos y se basa en que, aunque los isómeros L van a estar presentes de forma constante durante la vida del individuo, al morir se va a producir una reacción de inversión de la configuración que será progresiva, haciendo que poco a poco se vayan a acumular isómeros en forma D. Como tienen propiedades ópticas diferentes, la mezcla presenta una actividad óptica que va a ir tendiendo a cero así como vaya aumentando la concentración del isómero D hasta llegar a una proporción 50:50. Una vez se pasa esta proporción entre los isómeros, la actividad óptica aumentará, estando ahora regida por las características ópticas del isómero D. El proceso es espontáneo a temperaturas inferiores a 40°C . Este dato es utilizado para medir el tiempo de vida medio que ha tardado en aparecer la concentración de D-aminoácidos, lo que se corresponde con la edad del ser vivo que ha fallecido. Esto puede usarse tanto en ámbitos de las ciencias forenses como en la paleontología, ya que se pueden datar muestras orgánicas hasta el Paleolítico Medio. Este dato depende de factores como el aminoácido concreto, la temperatura de reacción, el grado de humedad, etc. En mamíferos, especialmente en el hombre, el enantiómero D-Asp va acumulándose a lo largo de la vida en el esmalte y la dentina, por lo que en individuos ancianos hay cantidades significativas de D-Asp. Así, la racemización de Asp en el esmalte y la dentina sirve para medir la edad de los seres humanos. El ácido aspártico es el único aminoácido que tiende a la racemización en vida del organismo, y se han encontrado otras zonas donde se da esta racemización, como en el cristalino, el cerebro y los discos intervertebrales.

5.2. Detección de enfermedades. Alzheimer

Se ha estado investigando sobre la utilización de técnicas de detección de esteresoisómeros en diversas enfermedades, como es el caso del Alzheimer.

La isomerización cis-trans de proteínas fosforiladas por kinasas es un ejemplo de esta técnica. En el Alzheimer, se ha detectado que la proteína tau está relacionada con la acumulación de la proteína beta amiloide, provocando la acumulación de sustancias transportadas por los axones. La proteína fosforilada tau (p-tau), en su configuración cis, aparece temprano en los cerebros con deterioro cognitivo leve, sobre todo acumulándose en neuronas degeneradas. Este isómero cis, a diferencia del trans, no puede promover el ensamblaje de los microtúbulos, es más resistente a la desfosforilación y degradación y más propenso a formar agregados, como se observa en la Figura 3. Mediante una detección (ya sea mediante anticuerpos o con una técnica distinta), se podrá identificar la presencia o no de isómeros cis en las neuronas del paciente, haciendo un diagnóstico a tiempo de esta enfermedad. La proteína Pin1 es la encargada de convertir los isómeros cis a trans, previniendo la patología de tau en Alzheimer [4].

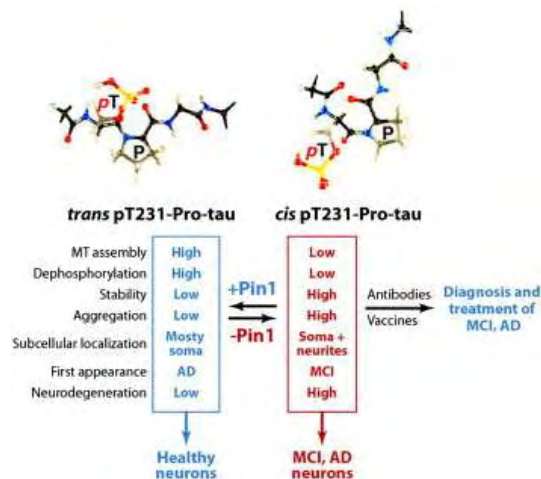


Figura 3. Isómeros cis-trans de p-tau y sus propiedades.

6. CONCLUSIONES

Como se ha visto a lo largo del artículo, las moléculas isoméricas participan en muchos procesos fundamentales para el organismo. Hay distintos casos en los que una molécula, tras una reacción, da dos isómeros con propiedades opuestas, algunos incluso con propiedades perjudiciales para el ser humano. Aunque la estereoisomería parezca a simple vista un concepto simple, necesita de mucho estudio y trabajo por parte de los investigadores a la hora de sacar conclusiones en relación a sus consecuencias en cada caso concreto. Todo esto, y muchos conceptos

más que no están plasmados en este artículo, hay que tenerlo en cuenta a la hora de, por ejemplo, diseñar fármacos, ya que debemos fijarnos en si el receptor diana del fármaco es específico para una conformación específica de la molécula en cuestión, para que así el fármaco sea adecuado. Además, hay factores externos que pueden provocar cambios en la estereoisomería de las moléculas y desencadenando acciones perjudiciales para el organismo.

REFERENCIAS

- [1] Ernest L. Eliel, Samuel H. Mander Lewis L., "Stereochemistry of organic compounds", Wiley Interscience eds., pp. 509-511, 1994.
- [2] Arango CA, Brumer P. "Communication: one-photon phase control of cis-trans isomerization in retinal." J Chem Phys. 2013 Feb 21;138(7):071104. doi: 10.1063/1.4792834. PubMed PMID: 23444989
- [3] Pestana CR, Silva CH, Uyemura SA, Santos AC, Curti C. "Impact of adenosine nucleotide translocase (ANT) proline isomerization on Ca²⁺-induced cysteine relative mobility/mitochondrial permeability transition pore." J Bioenerg Biomembr. 2010 Aug;42(4):329-35. doi: 10.1007/s10863-010-9297-4. Epub 2010 Jul 8. PubMed PMID: 20614171.
- [4] Nakamura K, Greenwood A, Binder L, Bigio EH, Denial S, Nicholson L, Zhou XZ, Lu KP. Proline isomer-specific antibodies reveal the early pathogenic tau conformation in Alzheimer's disease. Cell. 2012 Mar 30;149(1):232-44. doi: 10.1016/j.cell.2012.02.016. PubMed PMID: 22464332; PubMed Central PMCID: PMC3601591.

¿Qué sabes sobre el Lupus Eritematoso Sistémico?

Julia Jiménez López

Resumen— El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad autoinmune para la cual aún no existe cura. Durante años se han utilizado glucocorticoides y otros fármacos con efectos inmunosupresores para tratarla. Sin embargo, sus numerosos efectos secundarios hacen necesaria una búsqueda de nuevas terapias que permitan aumentar, no solo la tasa de supervivencia, sino la calidad de vida de los pacientes de lupus. El tratamiento con el anticuerpo *Rituximab*, dirigido contra el marcador CD20 presente en los linfocitos B maduros, ha tenido efectos beneficiosos en algunas enfermedades autoinmunes, pero los ensayos en pacientes con lupus no han tenido resultados muy satisfactorios. Sin embargo, el último gran descubrimiento, que parece ser muy prometedor, es el fármaco *Belimumab*, un anticuerpo dirigido contra la citoquina BAFF, factor activador de los linfocitos B. Este fármaco ha sido aprobado en 2011 por la FDA, siendo el primero aceptado en 50 años para tratar el lupus eritematoso sistémico. El *Belimumab* está especialmente dirigido para tratar a enfermos incapaces de responder a los tratamientos convencionales, aunque también se está aplicando en combinación con otros fármacos inmunosupresores para reducir los efectos secundarios de éstos. Además, existen otras terapias en estudio utilizando como diana otras citoquinas, como interleucina 6 o TNF, cuyos ensayos clínicos están en fase I y II, respectivamente. Estas nuevas terapias podrían significar un antes y un después para los enfermos con lupus, mejorando su calidad y esperanza de vida.

Palabras Claves— Autoinmune, Belimumab, Glucocorticoides, Lupus, Mujeres.

1. INTRODUCCIÓN

El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad autoinmune caracterizada por la síntesis masiva de anticuerpos contra antígenos propios (ADN, histonas, eritrocitos, ribosomas y plaquetas, entre otros). Los anticuerpos reconocen y se unen a estos antígenos, formando complejos que se depositan en distintas partes del organismo. La gran acumulación de estos complejos en determinadas zonas, como en los vasos sanguíneos, riñones o pulmones, origina daños tisulares [1].

Esta enfermedad aparece en 7 de cada 100.000 individuos al año, y suele iniciarse entre los 17 y los 35 años de edad. Además, curiosamente, es 9 veces más frecuente en mujeres que en hombres [2]. Aunque la causa de esta diferencia aún no está muy clara, los estudios realizados al respecto parecen apoyar la hipótesis de que el estradiol, hormona sexual femenina, incrementa la expresión de la enzima calcineurina. Esta última puede alterar la regulación de citoquinas implicadas en la comunicación entre los linfocitos T y B, necesaria para la producción de los anticuerpos [3].

El lupus eritematoso sistémico se desarrolla con diferente sintomatología en función del individuo, pero las manifestaciones más frecuentes son inflamación y dolor de articulaciones y músculos (que puede desembocar en artritis), eccemas en la piel y daños tisulares en pulmones, corazón y riñones [2] (fig. 1).

Hasta hace unas dos décadas, el conocimiento que se tenía sobre esta enfermedad era muy escaso, lo que impedía el desarrollo de fármacos adecuados para su tratamiento. Fue entonces cuando Wakeland y otros científicos realizaron estudios para conocer mejor el desarrollo del lupus, utilizando como modelo ratones afectados con esta enfermedad. Esta investigación permitió discernir tres eventos durante su desarrollo [1]:

Pérdida de la tolerancia a antígenos propios por parte de los linfocitos B y T, como consecuencia de anomalías en la activación o longevidad de los linfocitos B, o de la alteración en la capacidad de eliminar complejos antígeno-anticuerpo [1].



Fig. 1. Principales síntomas del lupus eritematoso sistémico [4].

Amplificación de la autoinmunidad por la desregulación de las células del sistema inmune innato y adaptativo [1]. Daño tisular causado por las deposiciones de complejos autoantígeno-anticuerpo [1].

2. ¿CÚALES SON LAS CAUSAS DEL DESARROLLO DEL LUPUS?

El lupus es una enfermedad multifactorial, cuyo desarrollo está determinado tanto por predisposiciones genéticas, como por factores ambientales. Diversos estudios han esclarecido algunos de los factores que parecen estar relacionados con la predisposición a padecer lupus [1]:

- Determinados polimorfismos de los genes FcγRIIb, CD22, BAFF o Sle1, entre otros [1].
- Infección por el virus Epstein Barr [3].
- Niveles de estradiol [3].
- Anticonceptivos [2].

No obstante, a día de hoy se desconoce la relación entre estos factores y el desarrollo del lupus, por lo que no se pueden considerar aún causas posibles de esta autoinmunidad.

3. ¿EL LUPUS ES UNA ENFERMEDAD MORTAL?

En la actualidad, no existe una cura definitiva para el lupus, pero con los años, y gracias a un mayor conocimiento sobre la enfermedad, se han logrado desarrollar tratamientos que permiten aumentar la supervivencia y la esperanza de vida de los pacientes. Gracias a estos tratamientos el lupus pasó de ser considerado una enfermedad potencialmente mortal, a una enfermedad crónica, en la que los pacientes sufren síntomas permanentes que pueden sobrellevar con los años [2].

Los glucocorticoides, como la prednisona, fueron los primeros fármacos que se comenzaron a utilizar con éxito en los pacientes con lupus. No obstante, su uso como tratamiento inmunosupresor tiene numerosos inconvenientes a largo plazo, como pérdida en la densidad ósea, aumento de peso, aparición de cataratas, hipertensión o desarrollo de diabetes, entre otros [5].

Años más tarde, se descubrieron otros fármacos inmunosupresores, como la ciclofosfamida, inductor de la muerte celular, o el micofenolato mofetil, un potente inhibidor de la replicación de ADN, que en la actualidad se utilizan para tratar esta enfermedad. Sin embargo, al igual que sucede con los glucocorticoides, ambos presentan problemas de toxicidad con su administración a largo

plazo, como la aparición de infecciones oportunistas, diarreas, falta de energía e incluso infertilidad [5].

Los inconvenientes derivados del uso de este tipo de fármacos, con el añadido de que solo el 80% de los pacientes con lupus responden a este tipo de tratamiento, han inducido a los científicos a continuar buscando nuevos tratamientos alternativos para combatir el lupus, que ayuden a mejorar tanto la supervivencia, como calidad de vida de los individuos que padecen esta enfermedad [6].

4. ¿EXISTEN NUEVAS TERAPIAS CONTRA EL LUPUS?

Recientemente, se han desarrollado nuevas estrategias que tienen como diana los linfocitos B, responsables de la sobreproducción de anticuerpos dirigidos contra antígenos propios [5].

La primera de estas terapias ha sido el Rituximab, un anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra CD20, un marcador superficial de las células B maduras que induce la depleción de los linfocitos B de la sangre (fig. 2). Inicialmente, este anticuerpo se desarrolló para tratar el linfoma de Hodgkin, pero también se ha utilizado satisfactoriamente en los tratamientos de artritis reumatoide, anemia hemolítica autoinmune o esclerosis múltiple, entre otras enfermedades [5].

Debido al éxito de este anticuerpo para tratar varias enfermedades autoinmunes, los científicos se plantearon la posibilidad de que también pudiera ser un remedio para los enfermos con lupus. Con este objetivo llevaron a cabo ensayos con roedores afectados con lupus, donde se pudo demostrar que el tratamiento inducía un descenso en el número de linfocitos B. Sin embargo, en los ensayos clínicos realizados en pacientes con nefritis lúpica (una afección que se presenta en la mitad de los enfermos con lupus y cuya consecuencia es una anormal o inexistente filtración de la sangre por los riñones), no se ha podido demostrar su eficacia, ya que los individuos tratados con Rituximab en combinación con glucocorticoides, no presentaron una mejoría en la función renal significativa frente a los que fueron tratados en exclusiva con glucocorticoides [7].

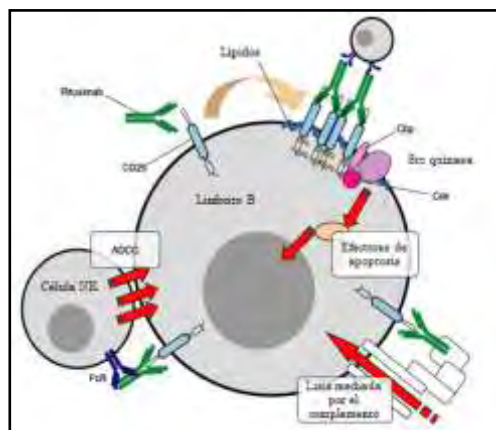


Fig. 2. Mecanismo de acción del anticuerpo Rituximab [8].

No obstante, este anticuerpo aún no ha sido descartado definitivamente como terapia para el lupus. En la actualidad se está llevando a cabo un estudio en Reino Unido para comprobar los beneficios de este fármaco si se trata a los pacientes con nefritis lúpica en exclusiva con Rituximab, sin combinación con otros fármacos [7].

Por otra parte, la segunda y más prometedora terapia ha sido la basada en el anticuerpo Belimumab. Este fármaco ha sido el primero aprobado por la FDA en 2011 para el tratamiento del lupus eritematoso sistémico en más de 50 años [8]. Su mecanismo de acción se basa en bloquear los factores activadores de linfocitos B (BAFF) solubles en la sangre y que son producidos por células mieloides, para evitar que se unan a los receptores BAFF en la superficie de los linfocitos B (fig. 3). Este factor, de la familia de los factores de necrosis tumoral (TNF), favorece la supervivencia y maduración de los linfocitos B, así como la producción de anticuerpos por parte de éstos [5]. La idea de utilizar los factores activadores de linfocitos B como diana terapéutica para el lupus, surgió cuando se observó que los pacientes con esta enfermedad u otros tipos de autoinmunidad presentaban una sobreexpresión de esta molécula.

El mecanismo innovador de este anticuerpo proporciona una alternativa de tratamiento para aquellos pacientes que no sean capaces de responder a los tratamientos estándar con glucocorticoides, micofenolato mofetil o ciclofosfamida [8]. Los ensayos clínicos realizados en más de 2000 individuos con lupus, han desvelado que los pacientes que presenten anticuerpos antinucleares, responden mejor al tratamiento con Belimumab. No obstante, también se han encontrado efectos adversos relacionados con la administración de este fármaco, por lo que se ha

propuesto su aplicación en combinación con otros fármacos para reducir las dosis administradas de cada uno [9].

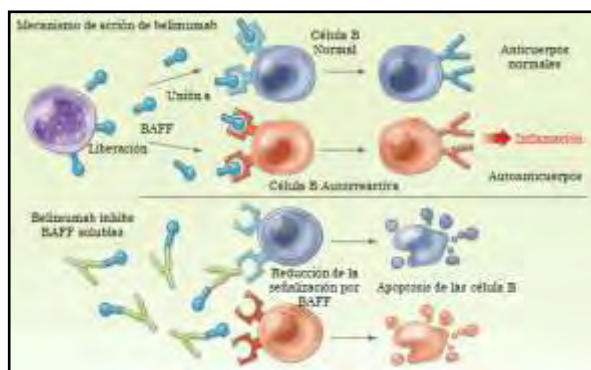


Fig. 3. Mecanismo de acción del anticuerpo Belimumab [10].

Esta nueva terapia parece tener un futuro prometedor, no sólo por haber demostrado su eficiencia en los enfermos de lupus eritematoso sistémico, sino porque su uso en combinación con otros inmunosupresores permitirá reducir los efectos secundarios producidos por las elevadas dosis de éstos que se administran a los pacientes. Además, la terapia combinada permite atacar la enfermedad por distintas vías, lo que es necesario ya que en el lupus hay múltiples mecanismos implicados [9].

Asimismo, se están realizando estudios de nuevas terapias con dianas en distintas citoquinas, tales como la interleucina 6, con el anticuerpo Tocilizumab, o el factor de necrosis tumoral (TNF), con el anticuerpo Infliximab, que parecen tan prometedores como el Belimumad. Los ensayos clínicos pertinentes se encuentran aún en fase I y II, respectivamente [5].

5. CONCLUSIONES

El Belimumab ha demostrado ser un fármaco eficaz para el tratamiento del lupus eritematoso sistémico en combinación con otros fármacos inmunosupresores. De esta forma se reducen las dosis necesarias de cada uno, y, por ende, los efectos secundarios del tratamiento. Además, esta combinación permite atacar la autoinmunidad por distintas vías, lo cual es importante por los distintos mecanismos que están implicados en el desarrollo del lupus eritematoso sistémico.

Además del Belimumab, se están iniciando ensayos clínicos con anticuerpos dirigidos contra citoquinas, como la interleucina 6 o el TNF, que también prometen ser beneficiosos para enfermos con lupus eritematoso sistémico. En un futuro próximo, se pretende poder aplicar tratamientos personalizados para los pacientes de lupus, gracias a las investigaciones que se están realizando en un esfuerzo por conocer mejor la enfermedad.

REFERENCIAS

- [1] V. Marian and J. H. Anolik "Treatment targets in systemic lupus erythematosus: biology and clinical perspective," *Arthritis Research & Therapy*, vol. 14 (Suppl 4): S3, pp. 1-8, Nov. 2012, doi:10.1186/ar3917
- [2] Web del Institut Ferran.
- [3] <http://www.institutferran.org/lupus.htm>
- [4] H. Mejía Salas y A. Mendoza Amatller "Lupus eritematoso sistémico," *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, vol. 43, no. 1, pp. 44-45, Ene. 2004, ISSN 1024-0675
- [5] Web de "El correo"
- [6] <http://servicios.elcorreo.com/graficos/lupus.htm>
- [7] M. S. Lo and G. C. Tsokos "Treatment of systemic lupus erythematosus: new advances in targeted therapy," *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, vol. 1247, pp. 138-152, Jan. 2012, doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06263.x
- [8] Web de PMFARMA.
- [9] <http://www.pmfarma.es/noticias/14085-benlysta-belimumab-ya-esta-disponible-en-espana-para-el-tratamiento-del-lupus-eritematoso-sistémico-les.html>
- [10] Web de "Con o sin lupus"
- [11] <http://conosinlupus.com/2012/01/22/nuevo-estudio-sobre-rituximab-en-el-tratamiento-de-la-nefritis-lupica/>
- [12] Web de "Cánceres info"
- [13] <http://canceres.info/?farmaco=rituximab>
- [14] Web del blog "Farma y salud"
- [15] <http://farmaysalud.blogspot.com.es/2012/03/se-aprueba-belimumab-el-primer-farmaco.html>
- [16] G. J. Dennis "Belimumab: A BLyS-Specific Inhibitor for the Treatment of Systemic Lupus Erythematosus", *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, vol. 91, pp. 143-149, Jan. 2012, doi:10.1038/clpt.2011.290



Julia Jiménez López es una estudiante de cuarto curso del Grado en Biotecnología, que inició sus estudios universitarios en 2009.

Tratamiento de la tuberculosis

Patricia del Rocío Gómez Villegas

Resumen—La tuberculosis es una enfermedad infecciosa causada generalmente por *Mycobacterium tuberculosis*, descubierto en 1882 por Koch. Es considerada una pandemia mundial, con 9 millones de casos nuevos y 2 millones de muertes cada año. El tratamiento actual se basa en la administración conjunta de los fármacos isoniácida, rifampicina y piracinamida durante varios meses. El problema reside en la aparición de cepas multirresistentes, siendo entonces necesario introducir nuevos fármacos antituberculosos. Las investigaciones se centran ahora en mejorar y acortar el tratamiento contra la tuberculosis mediante nuevos medicamentos y vacunas, así como en intentar prevenir el contagio.

Palabras Claves—Tuberculosis, tratamiento, antimicobacterianos, resistencia, mutación.

1. INTRODUCCIÓN

Las bases del tratamiento contra la tuberculosis son bien distintas a las establecidas para la mayoría de las enfermedades bacterianas, ya que *M. tuberculosis* tiene un tiempo de generación largo y la posibilidad de entrar en latencia con una baja actividad metabólica. El tratamiento de la tuberculosis consiste en el empleo conjunto de varios fármacos durante un tiempo prolongado [1,2]. Esto es debido a la existencia de varias poblaciones de bacilos con diferente actividad metabólica y localización. Así por ejemplo, encontramos bacterias en las cavidades pulmonares que se dividen activamente en un ambiente aerobio, otras ubicadas dentro de los macrófagos en un medio microaerófilo que induce la latencia y otras con un crecimiento intermitente en el *caseum*.

Un aspecto de especial relevancia en el tratamiento de la tuberculosis, es la aparición de cepas multirresistentes a los fármacos empleados por la adquisición secuencial de mutaciones en genes distintos. Las micobacterias suelen ser resistentes de forma natural a una gran variedad de compuestos antibacterianos, debido a la pared compleja altamente hidrofóbica que poseen. Por eso es necesario tratar a los enfermos con antimicrobianos específicos.

El tratamiento actual consiste en la administración combinada de tres fármacos durante seis meses. Estos son isoniácida (INH), rifampicina (RIF) y piracinamida (PZA) durante los dos primeros meses e INH y RIF hasta culminar los seis meses de tratamiento. En algunos casos debe añadirse un cuarto fármaco, etambutol (ETB) en adultos y estreptomina (STR) en niños [1,2]. Estos cuatro fármacos son los denominados de primera línea, pero a veces es necesario administrar otros, considerados de segunda línea, cuando aparecen cepas multirresistentes por la adquisición secuencial de mutaciones en genes distintos.

2. ISONIACIDA

Fue introducido en la terapéutica en el año 1952 porque los bacilos causantes de la tuberculosis son muy sensibles a él, mientras que otras micobacterias no los son. La INH es un profármaco sintético que requiere una activación *in vivo* para su conversión en un derivado capaz de oxidar o acilar grupos proteicos. La reacción de transformación en el compuesto activo está catalizada por la enzima catalasa-peroxidasa codificada por el gen *katG*. El derivado activo actúa bloqueando la síntesis de ácidos micólicos

mediante la inhibición de la reductasa de la proteína transportadora de los ácidos grasos acilénicos codificada por el gen *inhA*. La INH solamente presenta actividad frente a los bacilos con replicación activa, siendo su acción limitada contra las poblaciones latentes o las del *caseum*, que se replican lentamente. La aparición de resistencia a la INH se da con una frecuencia de 10^{-5} a 10^{-6} y está relacionada con mutaciones en uno de los dos genes mencionados anteriormente, ya que solamente del 10 al 20% de las cepas resistentes no presentan alterados *katG* ni *inhA*. En cuanto a sus efectos secundarios, cabe destacar la hepatotoxicidad y la polineuritis periférica por déficit de piridoxina, pudiéndose prevenir los daños neurológicos ingiriendo diariamente entre 10 y 50 mg de piridoxina [1,2].

3. RIFAMPICINA

Es un fármaco antimicrobiano semisintético de uso terapéutico desde 1967. Posee un grupo aminometilpiperacina en posición 3, y al igual que el resto de rifamicinas inhibe fuertemente la transcripción del ADN. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la ARN polimerasa dependiente de ADN mediante la fijación a la subunidad beta de la misma, impidiendo por tanto la síntesis de ARNm. La RIF tiene efecto tanto sobre las células en multiplicación activa como en las que se hallan en un estado latente en el interior de los macrófagos o en los focos necróticos [1].

La frecuencia de aparición de resistencia se sitúa en torno a 10^{-8} , debido a la aparición de mutaciones espontáneas en el ADN de los bacilos. Estas mutaciones suelen situarse en una zona bien definida de 81 pares de bases de la región central del gen *rpoB*, que es el que codifica para la subunidad beta de la ARN polimerasa ADN dependiente. Según los estudios realizados, más del 96% de las cepas resistentes a la RIF tienen alteraciones en esta región. La aparición de resistencia en el 4% restante de las cepas, se cree que se debe a mutaciones relacionadas con la permeabilidad de las RIF. Generalmente la resistencia a las RIF se relaciona con la resistencia a la INH, indicando su detección un marcador de multirresistencia [1].

La administración de RIF puede producir molestias gastrointestinales, daño hepático, reacciones de hipersensibilidad como fiebre, urticaria, vasculitis cutánea, hemólisis,

insuficiencia renal por nefritis intersticial o trombocitopenia. Además tiñe la orina, el sudor y las lágrimas de color naranja y es un potente inductor enzimático, pudiendo disminuir las concentraciones séricas de otros fármacos que se tomen concomitantemente como anticonceptivos y anticoagulantes orales, antirretrovirales y corticoides entre otros [1],[2].

4. PIRACINAMIDA

La PZA es un derivado sintético de la nicotinamida que posee acción antimicobacteriana únicamente sobre los bacilos en estado latente. Es un profármaco que se convierte en su forma activa, el ácido piracinoico, por la acción de la enzima piracinamidasa. La PZA entra en los macrófagos mediante difusión pasiva, donde se acumula tras ser convertida en ácido piracinoico. La diana del ácido piracinoico es una enzima encargada de sintetizar los ácidos micólicos que componen la pared de los bacilos. La inhibición de esta enzima se produce por dos mecanismos; mediante el bloqueo directo y por la bajada del pH del medio por debajo de los límites tolerados por esta enzima. La introducción conjunta de la PZA con la RIF ha permitido bajar el tiempo de tratamiento de la tuberculosis no complicada a seis meses.

La mayoría de las cepas de *M. tuberculosis* resistentes a la PZA poseen mutaciones en el gen estructural *pncA* o en el promotor del gen de la piracinamidasa. En los casos restantes, la resistencia se explica atendiendo a la alteración de mecanismos relacionados con la permeabilidad al fármaco. Los principales efectos secundarios de la PZA son: hiperuricemia por el bloqueo de la secreción tubular renal de uratos, hepatotoxicidad, alteraciones gastrointestinales y excepcionalmente exantema y fotosensibilidad [1],[2].

5. ETAMBUTOL

El ETM es un isómero dextrógiro derivado de la etilendiamida. Presenta actividad especialmente contra las células de *M.tuberculosis* en división activa. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la biosíntesis de la pared bacteriana. La resistencia de las cepas a este fármaco se observa con una frecuencia de 10^{-5} y suele estar ocasionada por mutaciones en el operón *embCAB*, el cual codifica para la arabinosil transferasa encargada de sintetizar componentes de la pared, como el arabinogalactano y el lipoarabinomano. El principal efecto negativo administrar ETM es la posibilidad de desarrollar neuritis óptica. Por este motivo el ETM no se emplea como tratamiento en niños, ya que en ellos es difícil monitorizar la agudeza visual [1],[2].

6. ESTREPTOMICINA

La STR es un antibiótico aminoglucósido que bloquea la traducción del ARNm a proteína. La diana de este fármaco en la subunidad 16S del ribosoma a la que bloquea uniéndose a ella. La frecuencia de resistencia a la STR es de 10^{-6} y es debida a una serie de alteraciones genéticas. Las principales mutaciones que confieren resistencia son

las que se dan en el gen *rrs*, que codifica para el ARNr 16S, o bien en el gen *rpsL*, que codifica para la proteína ribosomal S12 [1].

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Actualmente, se están desarrollando varias estrategias para mejorar el tratamiento de la tuberculosis. Entre las propuestas futuras encontramos una nueva generación de fármacos en estudio: la rifabutina, la rifapentina que actúan de manera similar a la RIF; las fluoroquinolonas, que inhiben a las topoisomerasas y la oxazolidinonas, con actividad similar a la INH [1]. Por otro lado, se ha desarrollado una vacuna terapéutica llamada RUTI que espera poderse aplicar pronto en humanos para mejorar la eficacia del tratamiento farmacológico e incluso reducirlo [3]. Por último cabe destacar el papel que podría desempeñar la vitamina D en el futuro tratamiento de la tuberculosis, ya que algunos estudios han demostrado que la administración de suplementos de vitamina D durante el tratamiento podría mejorar su eficacia [4].

8. CONCLUSIONES

La tuberculosis es una enfermedad extendida por todo el mundo, si bien los índices de incidencia varían entre unos países y otros. Debido a la resistente pared que presenta *M. tuberculosis*, son necesarios fármacos especiales contra micobacterias. Actualmente la combinación de isoniacida, rifampicina y piracinamida además de la adición ocasional de etambutol en adultos y estreptomycinina en niños, suele ser suficiente para curar la enfermedad cuando no hay complicaciones. Sin embargo, este tratamiento tiene una serie de inconvenientes como los efectos secundarios del uso continuado de fármacos, y la aparición de cepas multirresistentes a los antimicobacterianos utilizados. Por eso los estudios actuales se centran en conseguir mejores tasas de curación en tiempos más cortos y en intentar prevenir el contagio. Para ello se están desarrollando nuevos fármacos y vacunas que se espera estén pronto disponibles para su administración en humanos.

REFERENCIAS

- [1] Coll, P. (2003) "Fármacos con actividad frente a *Mycobacterium tuberculosis*". *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 21(6):299-308.
- [2] Hall II, R. G. Leff, R. D. y Tawanda Gumbo, M.D. (2009). "Treatment of Active Pulmonary Tuberculosis in Adults: Current Standards and Recent Advances: Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists". *Pharmacotherapy*, 29(12): 1468-1481
- [3] Gea, J. (2008). "La investigación básica en neumología". *Arch Bronconeumol*, 5(11):625.
- [4] Yamshchikov AV et al. (2009). "Vitamin D as Adjunctive Therapy in Refractory Pulmonary Tuberculosis: A Case Report". *The Southern Medical Association*, 102(6):649-652.



Patricia del Rocío Gómez Villegas. Estudiante de 5º curso de la Licenciatura de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

Phage Display: Anticuerpos fágicos

Laura Moreno Guerrero

Resumen—La ingeniería de anticuerpos ha permitido desarrollar, entre muchas otras estrategias, el sistema “*Phage Display*”, el cual permite utilizar partículas fágicas para la expresión de anticuerpos en su superficie. Estos fagos modificados hacen las veces de anticuerpos monoclonales, pudiendo utilizarse en múltiples aplicaciones, tanto diagnósticas como terapéuticas, así como en el ámbito de la investigación.

Palabras Claves— Anticuerpo, Fago, Ingeniería, Inmunología, Terapia.

1. INTRODUCCIÓN

Existen numerosos receptores de superficie celular que constituyen dianas terapéuticas, pudiendo actuar como antígenos de anticuerpos monoclonales generados específicamente contra ellos [1]. En ocasiones se precisa que dichos anticuerpos sean endocitados al interior celular, con el fin de internalizar fármacos o drogas cuyo efecto solamente puede tener lugar dentro de la célula. Los anticuerpos fágicos, generados a partir de bacteriófagos (virus que infectan bacterias), han resultado ser muy útiles a este respecto, siendo posible, así mismo, su almacenamiento en bibliotecas de anticuerpos [2]. Si se une a todo esto la posibilidad de seleccionar los anticuerpos de interés directamente mediante células vivas [1], se obtiene un sistema relativamente fácil de utilizar, que posibilita la identificación de antígenos específicos, por ejemplo asociados a una célula tumoral, y que puede emplearse como base para tratamientos de enfermedades en humanos, sabiendo que los anticuerpos desarrollados están completamente humanizados (codificados por secuencias humanas), con el fin de evitar problemas de inmunogenicidad [1].

Con esta estrategia se han mejorado los resultados conseguidos con aproximaciones anteriores, en las que las proteínas antigénicas primeramente eran purificadas de sus dianas, o bien sintetizadas y secretadas por cultivos celulares bacterianos, de insectos o de mamíferos. En muchos casos las proteínas no poseían la conformación tridimensional natural, y el sistema de producción era poco eficiente o incluso incapaz de sintetizar la proteína si ésta era demasiado compleja, así como el proceso se veía demasiado prolongado en el tiempo [1]. El empleo de anticuerpos fágicos ha permitido salvar muchos de estos inconvenientes, presentándose como una estrategia eficaz y asequible.

2. ESTRATEGIAS DE PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES

Existen básicamente dos sistemas de generación de anticuerpos [2],[3]: el clásico, que emplea la técnica de hibridomas; y el método alternativo y más actual, que se basa en la tecnología de anticuerpos recombinantes, dentro de la que se incluye el sistema *Phage Display*.

2.1. Técnica de hibridomas

Esta metodología consiste en extraer linfocitos B del bazo de un animal que ha sido expuesto al antígeno, comúnmente un ratón. Los linfocitos B obtenidos (que mueren tras pocos días de cultivo *in vitro* al no ser activados por linfocitos T) son fusionados con células de mieloma, un tipo de célula cancerígena que puede crecer de forma indefinida en cultivos celulares. Las células fusionadas se llaman hibridomas y pueden multiplicarse rápida e indefinidamente y producir gran cantidad de anticuerpos monoclonales. Tras seleccionar, en diversos medios de cultivo, los híbridos productores del anticuerpo específico frente al antígeno deseado, se cultivan para producir grandes cantidades de anticuerpo [3].

Tiempo después del surgimiento de esta técnica, se utilizó la ingeniería genética con el fin de construir anticuerpos quiméricos, humanizados y completamente humanos que no provocaran rechazos (los primeros anticuerpos eran murinos, es decir, de ratón, y provocaban reacciones antigénicas en humanos) [2].

Debido principalmente a que la generación de anticuerpos humanos mediante hibridomas humanos resultaba bastante complicada, a causa de su baja productividad, se desarrollaron otras tecnologías alternativas, basadas en la producción de anticuerpos recombinantes [2].

2.2. Tecnología de anticuerpos recombinantes

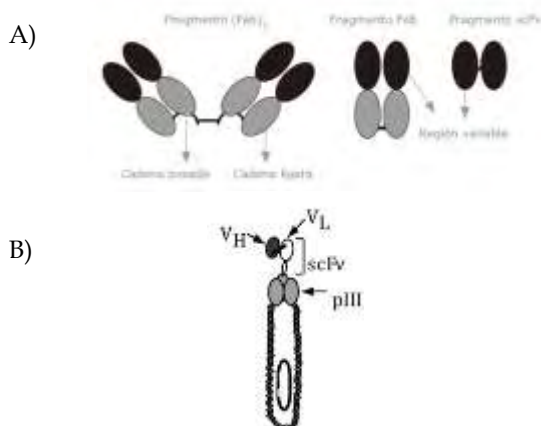
Existen muchas aproximaciones de este sistema: empleando levaduras, bacterias, ribosomas... y **fagos** (para lo cual se precisa de una biblioteca de anticuerpos).

Las bibliotecas de anticuerpos que se construyen pueden clasificarse principalmente en dos tipos: **inmune** o **inmunizada** y **naive** o **novata**. En el primer tipo las inmunoglobulinas son específicas de antígenos concretos, mientras que en el segundo tipo los anticuerpos son inespecíficos [2].

Básicamente, las distintas metodologías se basan en la generación de anticuerpos recombinantes diseñados para unirse a ciertos epítomos celulares interesantes, con el fin de identificar o bloquear células principalmente.

3. PHAGE DISPLAY

El sistema *Phage Display* se fundamenta en la existencia de una colección de fagos recombinantes que exponen en su superficie distintos tipos de moléculas tales como péptidos o anticuerpos, constituyendo una biblioteca fágica del elemento de interés, en este caso anticuerpos. Los bacteriófagos utilizados suelen ser filamentosos, como el M13, poseedores de un ADN de cadena simple fácilmente manipulable [2]. Los anticuerpos se expresan en forma de fragmentos Fab (región de unión al antígeno) o scFv (fragmentos variables de cadena simple) fusionados a proteínas de la cápsida del virus (Figura 1); esencialmente a la proteína pIII (para expresar una copia) y la proteína pVIII (para una expresión multivalente). La expresión de los anticuerpos completos causa problemas de ensamblaje y empaquetamiento en el fago, por lo que no se lleva a cabo de esta forma [3].



Mediante técnicas de ingeniería genética, es posible manipular el material genético del fago e insertar en su genoma la secuencia externa de ADN, codificante para la región de interés del anticuerpo. En la actualidad, para el empleo de esta tecnología, resulta más cómodo utilizar los denominados fagómidos, es decir, vectores plasmídicos pequeños formados por una construcción genética artificial diseñada con el gen III del fago M13, secuencias necesarias para la infección correcta de *E. coli*, y un lugar concreto de inserción para la secuencia de ADN del anticuerpo de interés [3].

4. BIOPANNING: SELECCIÓN DE ANTICUERPOS

Una vez se dispone de la biblioteca de anticuerpos fágicos, el paso siguiente es seleccionar aquellos dirigidos contra un antígeno específico, lo que se conoce como **biopanning**. Una de las estrategias utilizadas consiste en incubar las células diana, poseedoras de los antígenos de superficie de interés, con la biblioteca fágica, lavándose los anticuerpos no unidos y eluyéndose posteriormente los fagos unidos específicamente a las células, tras ser

separados de las mismas, bien de su membrana plasmática, bien de su citosol [1].

Si se seleccionan solamente anticuerpos de unión a superficie, se parte de la colección de fagos, se incuba con las células, lavándose varias veces para eliminar las partículas fágicas que no se hayan unido y, finalmente, se eluyen los fagos unidos a los receptores celulares (Figura 2).



Fig. 2. Selección de anticuerpos de unión a superficie celular. Modificado de [1].

Si por el contrario, se desea que los anticuerpos de interés sean endocitados al interior celular, la diferencia con el método anterior radica en que primeramente debe incubarse a unos 4 °C para que se produzca la unión de los fagos a las células, para luego subir a 37 °C y permitir la endocitosis mediada por receptor. Luego los fagos unidos a las superficies son lavados y las células lisadas para posibilitar la recuperación de los fagos de interés que han sido internalizados (Figura 3).

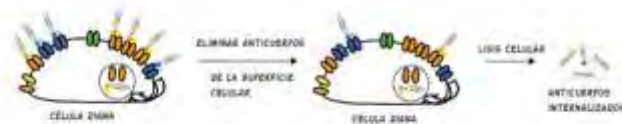


Fig. 3. Selección de anticuerpos endocitados. Modificado de [1].

De manera preliminar a todo el proceso suele ser necesario un protocolo de depleción o eliminación de anticuerpos que se unen a receptores de membrana mayoritarios o altamente representados. De esta forma se reduce el número de anticuerpos de partida para el proceso de selección. En este caso, las células diana que se utilizan deben estar relacionadas con la línea celular utilizada posteriormente para la selección, pero deben carecer del perfil antigénico diana para los anticuerpos de interés [1].

Se suelen realizar varios pasos de selección, de forma que la población de fagos con afinidad a la diana de interés se va enriqueciendo, y se van eliminando aquellos clones con menor afinidad.

Finalmente se infecta *E. coli* con los fagos obtenidos y éstos se amplifican. A continuación, puede continuarse seleccionando para enriquecer en el anticuerpo de interés, o bien realizarse un análisis de esos clones [1].

5. CARACTERÍSTICAS DE LOS ANTICUERPOS

Se ha observado que la mayoría de los anticuerpos parecen unirse a epítopos dominantes solapantes (el mismo epítopo para varios anticuerpos) en los receptores diana, sin importar el tamaño del receptor. Algunos anticuerpos se unen a epítopos distales de la membrana y otros a epí-

topos más cercanos, pero en general suelen unirse a lugares cercanos a los sitios de unión del ligando natural, que además suelen coincidir con las localizaciones más accesibles de la superficie celular (Figura 4) [1].

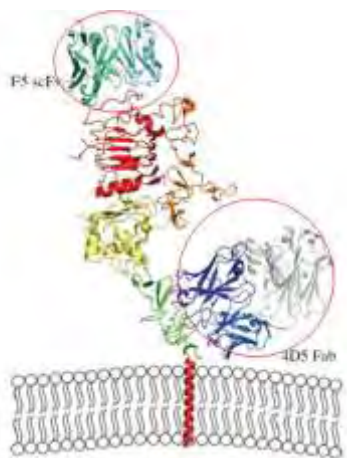


Fig. 4. Representación gráfica de un fragmento scFv y de un fragmento Fab unidos a dos sitios diferentes de un receptor de membrana. Modificado de [1].

6. APLICACIONES

El sistema *Phage Display* ha demostrado su relevancia en múltiples ámbitos, pudiendo utilizarse los anticuerpos fágicos para la selección e identificación de epítomos interesantes (asociados a un tumor, modificaciones postraduccionales...), para el diseño de vacunas (immunizando con fagos que sean portadores de péptidos derivados de proteínas de patógenos), y para el tratamiento de diversas enfermedades (cardiovasculares, autoinmunes como la esclerosis múltiple, problemas derivados de rechazos a trasplantes...) [1], [3]. Estas inmunoglobulinas pueden bloquear la señalización o comunicación celular, provocar la muerte de la célula o influir en su metabolismo mediante la internalización de fármacos [1].

En definitiva, es posible aplicar esta metodología tanto al tratamiento de patologías como a la investigación básica, ofreciendo un sinnúmero de posibles alternativas y variaciones del sistema, con el fin de adaptarse a los objetivos requeridos.

7. CONCLUSIONES

El empleo de bibliotecas de anticuerpos fágicos recombinantes, junto a la estrategia de selección directa de dichos anticuerpos (tanto de unión a superficie como internalizantes) mediante el empleo de células diana que presentan los antígenos apropiados, constituye una estrategia muy potente que ha hecho posible el desarrollo de terapias y métodos de diagnóstico clínico, así como protocolos para caracterización de moléculas de interés en investigación.

Uno de los grandes retos sigue siendo, sin embargo, la identificación de los antígenos reconocidos por los anticuerpos, cuestión fundamental para el posterior desarrollo de los paneles de anticuerpos de interés. Este es un punto que debe seguir estudiándose y de cuyo conocimiento podrán conseguirse mejoras significativas en los protocolos de uso de los anticuerpos, pues tan importante resulta el anticuerpo como la molécula a la que se une la inmunoglobulina, especialmente los epítomos o sitios concretos de unión.

Así mismo, tradicionalmente se venían utilizando proteínas purificadas para las distintas aproximaciones terapéuticas, pero se han observado ciertos inconvenientes tales como plegamiento inadecuado, problemas con las modificaciones postraduccionales, presencia de contaminantes derivados del proceso de purificación, etc. Estas desventajas han sido solventadas con el sistema *Phage Display*, gracias a la posibilidad de seleccionarse directamente los anticuerpos a partir de las células dianas.

En conclusión, aunque debe seguir investigándose y mejorándose la estrategia, los anticuerpos fágicos parecen ser buenas herramientas para el diseño de protocolos y terapias, prometiendo unos resultados más satisfactorios que los obtenidos hasta ahora con otras metodologías.

REFERENCIAS

- [1] Zhou, Yu; Zhao, Lequn; Marks, James D. (2012) "Selection and characterization of cell binding and internalizing phage antibodies". *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 526: 107-113.
- [2] Ruiz, Gema; Moreno, María; López, Marta; Vega, Miguel (2009). "Anticuerpos monoclonales terapéuticos". Informe de vigilancia tecnológica. *Genoma España*, pp. 15-23
- [3] Texto digital disponible en: <http://phagedisplay.es/> [Consultado el día 6 de Febrero de 2013].



Laura Moreno Guerrero Estudiante de 4º de Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

Tratamiento novedoso para adelgazar: Vacunas Terapéuticas

Miriam Yagüe Capilla

Resumen—Los tratamientos empleados hoy en día para la pérdida de peso suelen tener muchos efectos secundarios que perjudican nuestra salud. Lamentablemente, un porcentaje importante de la población lo necesitan porque padecen obesidad. Para paliar la obesidad y los riesgos asociados esta, se está desarrollando un nuevo tratamiento basado en vacunas, que, con ayuda del sistema inmune, ayudará a los pacientes a disminuir de peso de forma segura.

Palabras Claves— Pérdida de peso, Somatostatina, Tratamiento de la obesidad, Vacuna terapéutica

1. INTRODUCCIÓN

Llega el verano, y quieres lucir una de tus prendas favoritas. Sin embargo, cuando te la pruebas no te convence, te ves mal frente al espejo y desde entonces inviertes tus máximos esfuerzos en intentar rebajar esos kilos que no te gustan. Compras todo tipo de productos que prometen una disminución rápida y fácil, ya sea por sus efectos diuréticos o porque “queman la grasa”. Da igual la cantidad de efectos dañinos que tengan sobre nuestra salud, ya que solo nos los tomaremos temporalmente, pero, para un porcentaje cada vez mayor de la población, el exceso de peso es un verdadero problema, y sus tratamientos son más largos, cobrando mayor importancia los efectos secundarios que puedan padecer.

Según la OMS, uno de cada cinco adultos del mundo padece obesidad, cuyo problema no es solo el exceso de peso, sino la aparición de riesgos como aumento de la presión sanguínea, ataque cardíaco, cáncer de próstata y colon o diabetes de tipo 2. Hoy en día, para atenuar los efectos de la obesidad se recurre a fármacos como el Xelical y el Reductil o también contamos con la posibilidad de una intervención quirúrgica. Ambas opciones tienen muchos efectos secundarios o riesgos que asumir, y por esta razón numerosas investigaciones se encaminan a encontrar una solución más eficaz a la obesidad. Para ello, los científicos se están aprovechando de las ventajas que nos ofrece el sistema inmunitario mediante el uso de vacunas.

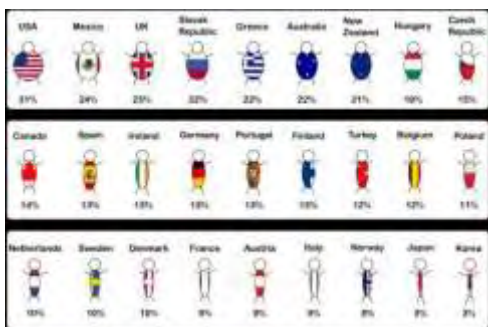


Figura 1. Porcentaje de obesidad en la población de distintos países ^[4]

2. VACUNAS TERAPÉUTICAS

El uso de las vacunas antes se enfocaba en la prevención de enfermedades, sin embargo, en medicina también se están empezando a emplear con fines terapéuticos. De hecho, ya se han puesto en práctica vacunas para el tratamiento del melanoma humano o el cáncer de próstata.

Un ejemplo de cómo funciona una vacuna terapéutica es la empleada para el tratamiento de la hipertensión arterial, que va dirigida a la angiotensina II para reducir la presión arterial ambulatoria. Esta es una vacuna formada por angiotensina II químicamente unida a partículas VLPs derivadas del RNA-fago Q β .

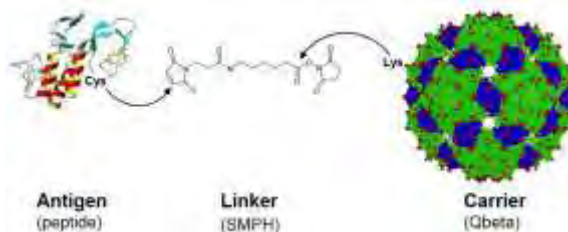


Figura 2. Estructura del VLP unido a la diana de la vacuna. El VLP es el Q β , el cual está unido por un linker al antígeno, que para el tratamiento de hipertensión sería la angiotensina II modificada. ^[5]

La sustancia inmunogénica es un VLP (o partícula pseudovirus). Los VLPs albergan solo la cápsida del virus, así que no es infeccioso y al no contener ningún material genético viral se previene la posible reversión a fenotipo patógeno. Además de seguro, es muy inmunogénico ya que presenta los epítopos en la superficie de la cápsida. Esto desencadena la recombinación génica de los receptores de linfocitos B, y, por tanto, su posterior activación, observándose una respuesta de anticuerpos frente a la angiotensina II tras la vacunación. Ha demostrado buenos

resultados y sin efectos adversos serios, mientras que el tratamiento farmacológico con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y antagonistas de los receptores tipo I de la angiotensina II solo controlaban los valores de un tercio de los pacientes. Así se prueba que la vacuna terapéutica puede ser un tratamiento alternativo a considerar frente a lo convencional, eficaz y a bajo coste.

3. DESARROLLO DE UNA VACUNA ADELGAZANTE

Tras el éxito de las vacunas terapéuticas en el tratamiento de otras enfermedades, la investigación se ha centrado en el uso de estas con un nuevo fin: perder peso. Existe un alto índice de obesidad en nuestra sociedad, y, aunque en un 70% de los casos es debida a factores ambientales como el estilo de vida, el otro 30% se corresponde con defectos genéticos, con difícil solución. Por eso, se busca una manera que permita a este tipo de personas adelgazar sin muchos efectos secundarios para evitar otras enfermedades derivadas de su exceso de peso.

En un principio, se estudió el desarrollo de vacunas contra la grelina, una hormona peptídica gastrointestinal que estimula la producción y liberación del neuropéptido Y (NPY) y que inhibe la pro-opiomelanocortina. Mientras que el NPY estimula la ingesta de comida y disminuye el gasto energético, el procesamiento de la pro-opiomelanocortina genera una hormona con efectos contrapuestos: disminuye el apetito y aumenta el gasto energético. Por tanto, parecía que una buena diana era utilizar anticuerpos contra la grelina que suprimiesen sus efectos y permitiesen no solo controlar el apetito sino también un mayor gasto de nuestras reservas energéticas. En consecuencia, se creó una vacuna que producía anticuerpos contra una porción de la grelina que la inactivaba. Sin embargo, no se obtuvieron los resultados deseados, ya que la vacuna requería el uso de adyuvantes que no son aconsejados en humanos y, además, a pesar de su contribución en el balance energético, solo conseguía mantener el peso del individuo pero no disminuirlo.

Sin embargo, Haffer no se dio por vencido y continuó investigando sobre este tema en la línea de las vacunas, pero cambiando de enfoque. Él se centró en otra hormona, la somatostatina, un inhibidor de la hormona del crecimiento (GH) y del factor de crecimiento insulínico (IGF-1). La hormona del crecimiento es una hormona peptídica anabólica, que, a parte de otras funciones como crecimiento muscular o estimulación de la síntesis de proteínas, está implicada en el aumento de metabolismo, y su consecuente pérdida de peso.

En este caso la vacuna está basada en un transportador altamente antigénico (tal y como ocurría con los VPLs) de cloranfenicolacetil transferasa (CAT) que había sido inactivado por una doble mutación. Al transportador se le acoplaba la somatostatina quimérica que activará la producción de anticuerpos contra la somatostatina del paciente. También se añadieron como adyuvantes aceites metabolizables, un polímero poliacrílico y polisacáridos

vegetales; todos inocuos para la salud humana.

Experimentos anteriores con vacunas de somatostatina quimérica mostraban que a los 4-10 días después de la vacunación comenzaban a producirse anticuerpos específicos (IgG e IgM) que se unen a la somatostatina y que atenuan (aunque no eliminan totalmente) sus efectos inhibidores sobre la GH e IGF-1, que conduce a la descomposición de la grasa y pérdida de peso corporal. Sin embargo, como los anticuerpos anti-somatostatina poseen una vida media muy corta y no se ven re-estimulados por la somatostatina endógena, el tratamiento requiere la posterior aplicación de la vacuna para continuar con sus efectos, que, al no observarse una respuesta en las células de memoria del sistema inmune, siempre da lugar a una respuesta primaria y nunca secundaria.

A continuación, para probar la efectividad de la vacuna, se tomaron dos grupos de ratones que habían sido alimentados con una dieta rica en grasas. A un grupo se le vacunó con la somatostatina quimérica, y al otro con una solución salina, PBS. Tal y como se esperaba, a los 4 días de la vacunación, se observó una disminución de entre el 12 y el 13% del peso corporal en el grupo que había sido tratado con somatostatina, mientras que el otro grupo no se vio afectado. En el día 22, se aplicó una segunda vacunación, esta vez con 1/5 de la dosis para no poner en peligro la salud de los ratones por una pérdida de peso tan drástica. Se volvió a comprobar una disminución de peso, esta vez del 2%, y sin ningún impacto negativo en la hormona IGF-1 ni en otros parámetros.

De esta manera, se ha demostrado que el tratamiento de la obesidad con el uso de vacunas es posible y efectivo, evitando el uso directo de hormonas anabólicas (como GH o IGF-1) y otros métodos que conllevan importantes efectos secundarios.

4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos con las vacunas de somatostatina indican que podría ser un tratamiento eficaz empleado para combatir la obesidad, sin embargo, aunque sea un descubrimiento prometedor, es necesario continuar las pruebas en humanos para poder analizar si existe algún efecto secundario importante y para ver cómo nos afecta a largo plazo. También es importante tener en cuenta que el uso de este tipo de vacunas solo se debe emplear en pacientes con importantes problemas de peso, y no en individuos que pueden obtener el peso deseado siguiendo una dieta equilibrada y con un estilo de vida sano.

Para terminar, se demuestra que las vacunas terapéuticas son ya una herramienta más en el mundo de la medicina, y que abren un nuevo campo de investigación para combatir enfermedades, que tienen o no tratamiento, de una manera más segura y efectiva.

REFERENCIAS

- [1] Haffer, K.N. "Effect of novel vaccines on weight loss in diet-induced obese (DIO) mice" *Journal of Animal Science and Biotechnology* (2012) 3 (21)
- [2] Monteiro, M.P. "Anti-ghrelin vaccine for obesity: a feasible alternative to dieting?" *Expert Reviews Vaccines* (2011) 10 (10): 1363-1365
- [3] Tissot, A.C., Maurer, P., Nussberg J., Sabat, R., Pfister, T., Ignatenko, S., Volk, H.D., Stocker, H., Müller, P., Jennings, G.T., Wagner, F., Bachmann, M.F. "Effect of immunization against angiotensin II with CYT006-AngQb on ambulatory blood pressure: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase IIa study" *Lancet* (2008) 371 (9615): 821-827
- [4] Página web: <http://viviendosanos.com/grafico-de-la-obesidad-mundial/>
- [5] Página web: <http://www.igert.org/highlights/365/image/818>



Miriam Yagüe Capilla estudiante del Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide desde 2009.

¿Simples moléculas orgánicas?

Marta Sierra Cruz

Resumen— Los aldehídos y cetonas son compuestos esenciales que regulan muchos procesos vitales tanto positiva como negativamente y que, probablemente, en un futuro, serán una buena alternativa para la cura de enfermedades.

Palabras Claves— Glucosa, Hormona, Aldehído-deshidrogenasa, Toxicidad, Cáncer.

1. INTRODUCCIÓN

Habitualmente, no reflexionamos sobre todas las reacciones químicas y los procesos tan complejos que ocurren en nuestro organismo.

Cada día, nuestras células nacen, se reproducen, mueren, se alimentan, obtienen energía, y todo lo hacen gracias a procesos en los que intervienen una gran diversidad de moléculas. Estas moléculas poseen grupos orgánicos característicos, haciéndolas idóneas para participar en dichos procesos. A este conjunto de moléculas pertenece la familia de los aldehídos y las cetonas.

2. IMPORTANCIA BIOLÓGICA DE ALDEHÍDOS Y CETONAS

Los aldehídos y cetonas son, como todos bien sabemos, compuestos orgánicos muy versátiles. Las cetonas se caracterizan por poseer un grupo carbonilo (CO) en posición interna de la cadena carbonada, mientras que los aldehídos presentan en su molécula un grupo formilo (COH), que se localiza en posición terminal. Ambos grupos se consideran muy reactivos, razón que hace de ellos unas excepcionales sustancias de estudio y manipulación. Su gran versatilidad les permite ser usados en el campo de la industria para obtener resinas, perfumes, plásticos y otros muchos productos de interés comercial. Sin embargo, también son sustancias esenciales para los seres vivos, pues forman parte de numerosas moléculas fundamentales para el metabolismo celular y en el área de la medicina.

A nivel celular, los aldehídos y cetonas son grupos orgánicos muy bien estudiados y conocidos, pues son los que les proporcionan las características propias a los llamados *carbohidratos*. Los carbohidratos o glúcidos son las biomoléculas energéticas por excelencia y, sin ellas, las células no podrían obtener energía en forma de ATP ni protegerse frente a condiciones adversas, como es el caso de los polisacáridos estructurales (celulosas, hemicelulosas y pectinas) que forman las paredes celulares de los vegetales, entre otros. Los glúcidos más sencillos son los *monosacáridos*, los cuales se clasifican en aldosas y cetosas, por tener grupos formilo y carbonilo, respectivamente. Algunos de ellos, como la glucosa, se presentan en la naturaleza como ciclos, gracias a la formación de hemiacetales y acetales. La *glucosa* es el monosacárido necesario para la obtención de ATP en las mitocondrias, de manera que si no existiera el grupo aldehído o estuviera defectuoso, todo el proceso de la respiración celular (glucólisis, Ciclo de Krebs y cadena transportadora de electrones) no se podría llevar a cabo de manera satisfactoria.

Por otro lado, las *hormonas* son esenciales para desempeñar determinadas funciones tanto a nivel celular como a nivel de organismo. Muchas de ellas poseen en su estructura grupos carbonilo o formilo que determinan su reactividad y la interacción con otras moléculas. Un buen ejemplo es la *testosterona*, la hormona masculina principal que controla procesos tan importantes en el desarrollo de un macho como el crecimiento del vello, la maduración

de los genitales y la prevención de enfermedades óseas, entre otros. Por otro lado, en el caso del sexo femenino, destaca la *progesterona*, una hormona esencial para controlar el ciclo menstrual, el embarazo y la maduración de los óvulos. Tanto la testosterona como la progesterona interactúan con receptores proteicos, los cuales deben reconocer de manera específica a los grupos funcionales de estas moléculas para que puedan realizar correctamente sus funciones. En la figura 1 se pueden visualizar los grupos aldehídos de ambas hormonas.

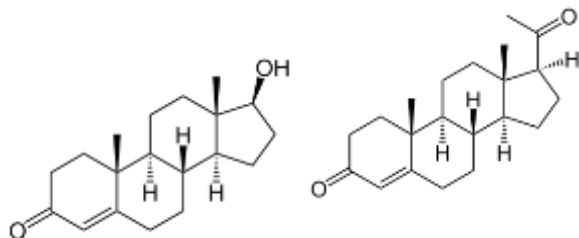


Figura 1. Testosterona y progesterona

Asimismo, los aldehídos y las cetonas están presentes en importantes complejos enzimáticos de muchos animales. Es el caso de las denominadas *aldo-ceto-deshidrogenasas*, unas enzimas que catalizan diversas reacciones de óxido-reducción. Dentro de este grupo de enzimas, destacan las *aldehído-deshidrogenasas* (ALDH), que se encargan de transformar aldehídos en ácidos carboxílicos, lo cual tiene una gran relevancia a nivel celular para poder metabolizar los excesos de alcohol en sangre. Cuando tomamos bebidas alcohólicas, nuestro organismo no es capaz de excretar el alcohol, de manera que tiene que ser metabolizado, es decir, hay que transformarlo en otras sustancias o compuestos más sencillos que sí puedan ser eliminados a través de la orina, el sudor u otros fluidos biológicos. De esta manera, como podemos observar en la figura 2, la enzima alcohol deshidrogenasa transforma el alcohol en acetaldehído (o etanal), un compuesto muy tóxico que también debe ser metabolizado. Se muestran también las moléculas NAD^+ y NADH , que actúan como cofactores de la enzima.



Figura 2. Metabolismo del alcohol

El etanal que se forma, al ser muy perjudicial para las células, debe ser metabolizado mediante una reacción enzimática mediada por la acetaldehído-deshidrogenasa (figura 3) y en la que también participan el NAD^+ y el NADH como cofactores. Además de en las células hepáticas, este compuesto es eliminado a través de la orina, el aliento y el sudor; siendo el responsable de la resaca durante las horas siguientes a la ingesta de alcohol. Este proceso se lleva a cabo tanto en el citosol como en las mitocondrias, y su efectividad puede variar en función de la edad y el sexo. Asimismo, se sabe que hay personas mu-

cho más sensibles a los efectos del alcohol que otras, debido a que la afinidad del sustrato por el centro activo de la enzima disminuye y la catálisis ocurre más lentamente.

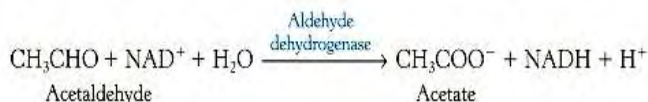


Figura 3. Metabolismo del etanal

En ocasiones, el exceso de alcohol en el organismo puede hacer que se produzcan fallos en estos mecanismos de eliminación de sustancias tóxicas. Por eso, hay que ser precavidos cuando ingerimos bebidas alcohólicas, pues pueden interferir en la síntesis de ADN durante la fase S del ciclo celular así como provocar numerosas mutaciones que harán que las células se transformen en tumorales. Esto viene dado, principalmente, porque se van acumulando en el hígado tanto un exceso de etanol como de etanal, igualmente tóxico, de forma que las enzimas anteriormente nombradas no pueden catalizar sus reacciones a la misma velocidad que penetran en las células estos compuestos nocivos.

3. IMPORTANCIA MÉDICA DE ALDEHÍDOS Y CETONAS

A pesar de que los aldehídos y las cetonas son imprescindibles para que se puedan desempeñar funciones tan específicas y necesarias como la eliminación de alcohol o la acción de hormonas, actualmente se sabe que existen compuestos químicos con estos grupos en sus moléculas que pueden causar efectos muy perjudiciales para la salud humana. Concretamente, investigadores de la Universidad del País Vasco, realizaron un estudio en febrero de 2012, en el que comprobaron que el uso continuado y repetido de un mismo aceite para cocinar, provoca la concentración masiva de *aldehídos cancerígenos*. El estudio se realizó con aceites de lino, girasol y oliva, siendo este último el que menos aldehídos tóxicos contenía. La conclusión a la que llegaron estos científicos tras el balance de los resultados fue que la ingesta de los alimentos fritos con estos aceites quemados aumentaba las probabilidades de sufrir enfermedades neurodegenerativas como Parkinson y Alzheimer.

Por su parte, las cetonas también han sido estudiadas en el ámbito médico. Sin embargo, en este caso, los efectos sobre los seres humanos, son muy positivos. Los investigadores han dado con lo que puede llegar a ser un método curativo del cáncer muy revolucionario en el futuro. El estudio consistió en, por un lado, tratar células tumorales de diferentes tejidos con glucosa; y, por otro, con glucosa más acetoacetato, una cetona que proviene del metabolismo mitocondrial de las células hepáticas. En el primer caso, las células tumorales crecieron y obtuvieron una cantidad de energía normal en forma de ATP. No obstante, en la segunda experiencia, las células tumorales disminuyeron su crecimiento y las concentraciones intracelulares de ATP eran mucho menores que en el primer caso. La explicación de esto radica en el hecho de que las células tumorales tienen activados en exceso los genes que

controlan la síntesis de las proteínas desacoplantes de la cadena transportadora de electrones, por lo que hay una mayor disipación de los protones. La presencia del acetato disminuye la expresión de estos genes, actuando por ello como un inhibidor. Así, se espera que en el futuro, se pueda idear una dieta basada en proteínas y grasas con suplementos de vitaminas y minerales, sin necesidad de usar la glucosa para evitar la aparición del cáncer.

4. CONCLUSIONES

Muy probablemente, todavía la ciencia desconozca muchos de los usos y aplicaciones de los aldehídos y cetonas en las áreas de la medicina, la industria agroalimentaria o en terapias curativas de enfermedades como el cáncer. Sin duda, si se sigue experimentando y estudiando a fondo a la célula, ella nos revelará qué más secretos esconde. Todo está inventado, solo tenemos que descubrirlo.

REFERENCIAS

- [1] Porté, S., Xavier Ruiz, F., Giménez, J., y otros. "Aldo-keto reductases in retinoid metabolism: search for substrate specificity and inhibitor selectivity". Volume 202, Issue 1-3, 25 February 2013, Pages 186-194.
- [2] Revista virtual Ciencia y Salud.
- [3] Sara Aldabe, Cecilia Bonazzolla, Pedro Aramendía y Laura Lacreu. "Libro Química 2, química en acción". Ediciones Colihue. Primera Edición, 2004.
- [4] Jeremy M Berg, John L Tymoczko y Lubert Stryer. " Libro Biochemistry". Editorial Reverté, S.A. Quinta edición, 2005.
- [5] Thomas M. Devlin. "Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones químicas. Editorial Reverté, S.A. Cuarta Edición, 2004.



Marta Sierra Cruz estudia 1º de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

MoleQla Sanitaria



TOS
PASTILLAS
BAMBU

BRONQUITIS • ASMA • GARGANTA
LABORATORIOS L.V.S.A. - FERRER DEL RIO, 34 - MADRID

IVACAFOTOR, PARA DAR UN RESPIRO.

Paula Callejo García

Resumen— La Fibrosis Quística es una enfermedad genética hereditaria causada por mutaciones en el gen que codifica para una proteína que actúa como canal de cloruro (CFTR). El conocimiento de este gen y el desarrollo de la terapia génica han permitido la potenciación de nuevos métodos que reducen los síntomas de la enfermedad y permiten una mejora en la calidad de vida de los pacientes con fibrosis quística. Ivacaftor supone un paso más en el tratamiento de la FQ y estudios recientes han determinado su mecanismo de acción y los beneficios que conlleva.

Palabras Claves— CFTR, Ivacaftor, VX-770, FQ.

1. INTRODUCCIÓN

La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad genética hereditaria causada por mutaciones en el gen que codifica para la proteína CFTR, un canal iónico involucrado en el transporte de sales y fluidos en diversos órganos como el pulmón. La manifestación clínica principal de la enfermedad es la infección crónica de las vías respiratorias (principalmente por *Pseudomonas aeruginosa*), lo cual causa un deterioro acelerado de la función pulmonar e incrementa la mortalidad. Normalmente, los pacientes de FQ se tratan con numerosos tipos de tratamientos incluyendo antibióticos para tratar las infecciones crónicas pulmonares y agentes que eliminan la acumulación de moco en el pulmón.[1]

El descubrimiento del gen CFTR en 1989 abrió un amplio abanico de posibilidades en el tratamiento de la FQ. Desde entonces se han llevado a cabo numerosos intentos para arreglar el defecto genético, obteniéndose diferentes niveles de éxito.

2. IVACAFOTOR

Ivacaftor es una terapia moduladora del gen CFTR aprobada por la FDA (Federal Drug Administration). Constituye la primera terapia basada en ADN empleada en pacientes afectados con FQ. Es una técnica muy precisa, sin embargo, va acompañada de un alto coste. Estas terapias se adaptan normalmente al defecto específico del tipo de FQ, causando un beneficio en la sintomatología, sin embargo, hay que tener en cuenta que no supone una cura para la enfermedad.

Ivacaftor (VX-770) es una terapia que ha sido aprobada recientemente por la FDA para el tratamiento de la FQ.

Está diseñada para actuar como potenciador de los canales CFTR epiteliales, prolongando el tiempo de apertura de los mismos, aumentando de este modo la actividad de transporte de cloruro.

Ivacaftor se centra en las mutaciones de tipo 3 que causan la FQ (defectos en la regulación de la proteína), principalmente en la mutación G551D-CFTR. [2]

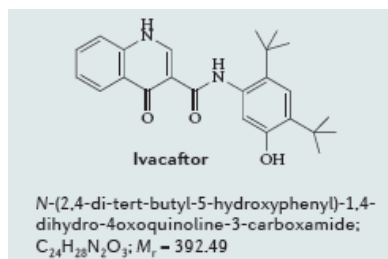


Figura 1. Estructura y fórmula química del compuesto Ivacaftor. [1]

3. MECANISMO DE ACCIÓN DE IVACAFOTOR

Se han realizado diversos estudios para establecer las bases moleculares de la actividad del canal de cloruro CFTR y el mecanismo por el cual, VX-770 (Ivacaftor), puede rescatar la función del canal de cloruro, cuya correcta actividad se ve interrumpida por una mutación.

Según los estudios realizados, CFTR es fosforilado por la proteína quinasa PKA (dependiente de AMPc) y es esta la diana de VX-770. VX-770 induce la apertura del canal a través de un mecanismo no convencional que no requiere unión a ATP ni hidrólisis: el canal CFTR puede ser estimulado por mecanismos independientes de ATP y proporciona una teoría para explicar la eficacia que tiene este com-

puesto en ensayos clínicos con pacientes que poseen la mutación G551, la cual altera el sitio de unión a través del cual se produce el mecanismo de apertura de canal dependiente de ATP. Ivacaftor se une directamente al CFTR fosforilado provocando la apertura del canal. Según los estudios realizados, este compuesto potencia la actividad ATPasa del CFTR-G551D. Sin embargo, este incremento no es suficiente para rescatar la actividad ATPasa del canal mutante (aproximadamente un 30%-50% de la actividad del canal CFTR wt).

Se piensa que ivacaftor modifica las propiedades de apertura del canal mutado, no directamente modificando el sitio catalítico y la interfase, sino modificando distintos elementos estructurales, muy importantes en el proceso de apertura. El mecanismo que se propone es la unión de ivacaftor a un sitio alostérico, diferente al sitio catalítico. Esta hipótesis se apoya en la observación de que VX-770 no altera la dependencia de la actividad del canal CFTR wt al ATP. Se cree que este compuesto se une a una interfase intramolecular a lo largo del eje de la molécula (proteína CFTR que constituye el canal de cloruro).

La estabilización de esta interfase podría facilitar la apertura del canal. El sitio de unión de VX-770 puede probarse directamente generando nuevos compuestos químicos basados en la estructura de VX-770, los cuales interactúan de manera covalente con residuos de la proteína CFTR. [3]

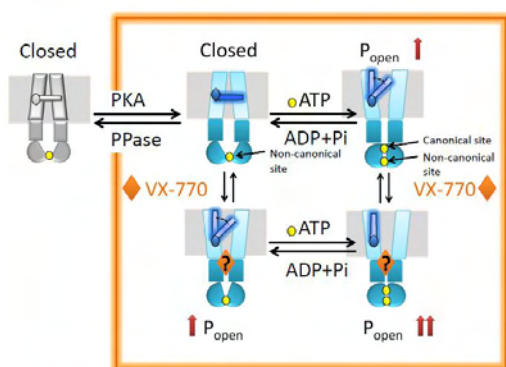


Figura 2. Esquema del mecanismo de acción del VX-770. [3]

El canal permanece cerrado cuando el sitio canónico catalítico no está ocupado por ATP y los NBDs (medias lunas) se separan. Normalmente el ATP se une al sitio catalítico e induce la formación de un dímero NBD que, a su vez, con-

lleva cambios conformacionales a lo largo de la región del bucle (rectángulos azules), conduciendo a cambios conformacionales de la membrana y abriéndose el canal, en última instancia. Según los resultados, en ausencia de ATP, la interacción de VX-770 en un sitio no conocido pero distinto al sitio catalítico también induce el cambio conformacional, abriéndose el canal. [3]

4. DATOS CLÍNICOS

La eficacia y la seguridad de Ivacaftor en pacientes de FQ que tienen al menos una mutación G551D en el gen CFTR se evaluó en dos ensayos en los que se realiza un control de placebo de forma aleatoria, realizado en 213 pacientes clínicamente estables. En el primer ensayo se evaluaron 161 pacientes de 12 años, los cuales contaban con un FEV (volumen espiratorio forzado en 1 segundo) del 40% al 90%, mientras que en el segundo ensayo se trataron 52 pacientes de edades de entre 6 y 11, con un FEV del 40% al 105%. En ambos ensayos, los pacientes fueron escogidos de manera aleatoria a la hora de recibir de manera oral 150 mg de Ivacaftor o bien placebo cada 12 horas (con alimentos que contienen grasa) durante 48 semanas, además de la terapia que individualmente estuvieran llevando a cabo para tratar la FQ (antibióticos u otros aunque no se permiten inhalaciones de soluciones salinas).

En ambos ensayos se observó una mejora de la función pulmonar, lo cual se determina por el cambio de porcentaje del FEV tras 24 semanas desde el inicio del tratamiento.

Otro de los puntos observados fue la mejora de los síntomas (tos y dificultad para respirar), el cambio en el valor inicial de la concentración de cloruro en el sudor (medida de la función del CFTR) y el tiempo de exacerbación pulmonar después de 48 semanas (evaluado únicamente en el primer ensayo).

Así, en ambos ensayos con Ivacaftor se produjo una mejora del FEV a las 24 semanas y los cambios persistieron a las 48 semanas. Se aprecia un aumento del 10,6% en el FEV de los pacientes tratados con Ivacaftor en comparación con los pacientes a los que se les administró placebo, el ensayo 1 y un 12,5% en el ensayo 2. Por otra parte, aquellos pacientes que fueron tratados con Ivacaftor mejoraron también el peso corporal en los dos ensayos, una media de 2,75 kg más. En el ensayo 1, tras las 48 semanas, en los pacientes que recibieron Ivacaftor se mostraron mejoras en los síntomas de la FQ y fueron un 55% menos propensos a la exacerbación pulmonar que aquellos a los que se le administró placebo.

Con el fin de probar si Ivacaftor puede activar la pequeña cantidad de CFTR con la mutación DF508 que llega a la

membrana plasmática, se realizó un tercer ensayo con 140 pacientes de 12 años de edad o mayores homocigotos para esta mutación y con un FEV mayor al 40%. Recibieron, en una proporción 4:1 y al azar, dosis de 150 mg de Ivacaftor cada 12 horas o placebo además de sus propias terapias prescritas para el tratamiento de FQ.

El tratamiento con Ivacaftor no resultó en ninguna mejora en comparación con el resultado de los pacientes tratados con placebo en ninguno de los parámetros: mejora pulmonar, síntomas, cambio en el peso...[1]

5. CONCLUSIONES

El conocimiento del funcionamiento y mecanismo de Ivacaftor ha permitido un paso más en la lucha contra la Fibrosis Quística. Siendo una terapia recientemente aprobada por la FDA tiene como objetivo actuar como potenciador de los canales CFTR epiteliales, prolongando el tiempo de apertura de los mismos. De esta forma, se pretende reactivar el correcto funcionamiento de los canales de cloruro, permitiendo una mejora en la calidad de vida de los pacientes con FQ.

REFERENCIAS

- [1] Pamela B. Davis, Uma Yasothan and Peter Kirkpatrick, "Ivacaftor", *NATURE REVIEWS, DRUG DISCOVERY*, Volume 11, May 2012
- [2] P.M. Barrett, A. Alagely and E.J. Topol, "Cystic fibrosis in an era of genomically guided therapy", *Human Molecular Genetics*, 2012, Vol. 21, Review Issue
- [3] Paul D.W. Eckford, Canhui Li, Mohabir Ramjeesingh1 and Christine E. Bear, "Mechanism of action of the CFTR potentiator VX-770", *JBC Papers in Press*, August 31, 2012



Paula Callejo García. Biotecnología.
5º Curso

Intolerancia a la Lactosa, ¿Por qué los mamíferos ya no pueden ‘mamar’?

David Gustavo Bañas Conejero

Resumen— Los problemas en la asimilación de lactosa son cada vez más frecuentes en los seres humanos, y es que todos los mamíferos a excepción de algunas etnias europeas, dejan de producir la enzima responsable de la digestión de este azúcar después de la lactancia.

Palabras Claves— Intolerancia, lactosa, lactasa, sustitución, mamíferos.

1. INTRODUCCIÓN

La lactosa es el principal carbohidrato presente en la leche de mamíferos, el cual se hidroliza a glucosa y sacarosa gracias a la acción de la enzima lactasa (lactasa-floridina hidrolasa), presente en el intestino delgado.¹

2. EPIDEMIOLOGÍA

La lactosa pasa de ser el principal carbohidrato en la alimentación durante nuestros primeros meses de vida, a ser apenas un 5% en la edad adulta. La incapacidad de producir la lactasa después de esta primera etapa, está cada vez más extendida. Esta deficiencia, no obstante, tiene una prevalencia distinta según el fondo étnico siendo en el norte de Europa de entre un 2 y un 15% y llegando en Asia hasta casi al 100% (Figura 1). [1], [2]

Este hecho no quiere decir que el 100% de los asiáticos sean intolerantes a la lactosa, pero sí tienen una deficiencia primaria de lactasa, es decir, la cantidad de lactasa que producen, después de los primeros meses de vida, es muy limitada, y por tanto, la cantidad de lactosa que pueden asimilar es muy reducida.

Cuando se dice que, a parte de los europeos del Norte, el resto de los mamíferos empiezan a dejar de sintetizar la lactasa tras pasar su estado lactante, lo que ocurre es que la cantidad de lactasa disponible para digerir la lactosa decrece considerablemente, atendiendo generalmente, a las necesidades dietéticas de cada individuo. Según el individuo y el tipo de deficiencia de lactasa se podrán ingerir y digerir, diferentes cantidades de lactosa, y a partir del umbral definido por la cantidad de enzima disponible en cada individuo, aparecerán los síntomas de la intolerancia.



Figura 1. Prevalencia de la intolerancia a la lactosa en el mundo. Se aprecia cómo esta deficiencia es más acusada en Asia, África o Sudamérica, y lo es menos en Europa y Norte América. [4]

Los problemas de síntesis de lactasa pueden deberse a una deficiencia primaria, o a una deficiencia inducida por una enfermedad. El primer tipo se refiere a deficiencias congénitas, por problemas en el desarrollo embrionario, o por etnia geográfica, el segundo tipo tiene lugar sobre todo, debido a situaciones que alteran la arquitectura de los pliegues de la membrana del intestino y también por sobrecrecimiento bacteriano.[1]

3. LA ENZIMA

La lactasa es una enzima poco convencional, ya que tiene dos centros activos con dos actividades enzimáticas dentro del mismo polipéptido. La primera es la relacionada con digerir la lactosa, la segunda tiene que ver con la hidrólisis de cerebrosidos para proporcionar esfingosina a tejidos como el cerebro. Esta segunda actividad es la razón de que no se pierda totalmente la síntesis de la lactasa después de la etapa lactante sino que, como hemos dicho, la cantidad necesaria, después de esta etapa, disminuye en gran medida y su expresión atiende sólo a las necesidades de esfingosina, aunque se digiera algo de la lactosa, de forma residual.[3]

4. PATOLOGÍA Y SINTOMATOLOGÍA

La actividad de la lactasa ocurre en las microvellosidades de las células epiteliales del intestino (enterocitos), donde se cataliza la hidrólisis de la lactosa. La ausencia de esta actividad provoca que la lactosa, sin ser digerida, pase al colon, donde incrementa la presión osmótica, aumentando la cantidad de agua dirigida al lumen intestinal. Además, si las bacterias del colon fermentan esta lactosa, puede dar lugar a la producción exagerada de gas intestinal y metabolitos que pueden ser tóxicos. [2]

En definitiva, se piensa que los síntomas de la intolerancia a la lactosa ocurren por la fermentación en el intestino grueso de carbohidratos no digeridos completamente en el intestino delgado.

Estos metabolitos pueden ser alcoholes, dioles como butan-2,3-diol, cetonas, ácidos, y aldehídos como el metilglioxal. Estas toxinas pueden inducir señales dependientes de calcio en la membrana de las bacterias, afectando a su crecimiento y modificando con ello el balance de la microflora en el intestino. Además, estas toxinas también afectan a los mecanismos de señalización con células de todo el cuerpo, explicando así el amplio rango de síntomas que muestra la gente con esta intolerancia. [3]

Algunos de los síntomas son: gases, dolor de estómago, hinchazón de estómago, borborismos (sonido de tripas), diarrea o estreñimiento, dolor de cabeza, fatiga, disfunciones mentales, dolor de músculos o articulaciones, palpitaciones, alergias, incluso infertilidad. [3]

Para tratar la intolerancia a la lactosa, se suele utilizar la terapia de sustitución de enzima. Esto es la administración de lactasa derivada de otras fuentes, como microorganismos. Por ejemplo, recientemente se ha probado el efecto de la lactasa de *Kluyveromyces lactis*, dando lugar a una reducción de los síntomas gastrointestinales sin efectos secundarios cuando se añade la enzima a la leche antes de consumirla. Otro sistema, más extendido, de sustitución de enzima es la administración de cápsulas o pastillas que contienen lactasa, junto con la comida que contiene lactosa, reduciendo la gravedad de los síntomas por ingesta de lactosa (de manera dependiente de la dosis). [2]

Pese a una incidencia mundial del 70%, no se ha encontrado todavía un tratamiento específico de curación para la intolerancia a la lactosa más allá del ajuste dietético correspondiente o la terapia de remplazamiento enzimático. Quizá ésta sea una buena idea, para un biotecnólogo emprendedor.

5. REFERENCIAS:

[1] A. de los Santos Morena, P. Romero Coresa, F. Navarro, J.A. Girón González, " Malabsorption syndrome (II). Coeliac disease. Lactose intolerance. Bacterial overgrowth ", *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. Vol 11, Issue 4,

pp 206-213, March 2012

- [2] 1. Gerda Ratzinger, Xueyan Wang, Michael Wirth, Franz Gabor. "Targeted PLGA microparticles as a novel concept for treatment of lactose intolerance", *Journal of Controlled Release*, Vol 147, pp 187-192, 2010
- [3] A.K. Campbell, S.B. Matthews, N. Vasselc, C.D. Cox, R. Naseema, J. Chaichia, B. Holland, J. Greene, K.T. Wann. "Bacterial metabolic 'toxins': A new mechanism for lactose and food intolerance, and irritable bowel syndrome", *Toxicology*. Vol 278, Issue 3, pp 268-276, 30 December 2010.
- [4] Web of Maxilact® : http://www.dsm.com/le/en_US/maxilact/html/lactose_intolerance.htm

David Gustavo Bañas Conejero: Estudiante de la universidad Pablo de Olavide. Actualmente cursando 5º de Licenciatura en Biotecnología. Manager del proyecto BioDocentia 2013 organizado por la Federación Española de Biotecnólogos (FEBiotec).



EPOC, cómo manejarla

Sofía Doello Román

Resumen— La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) se caracteriza por la limitación del flujo de aire al interior de los pulmones y engloba principalmente a dos enfermedades: bronquitis crónica y enfisema pulmonar. La principal causa de la EPOC es la exposición al humo del tabaco. Aunque el tratamiento general usado contra esta enfermedad es la oxigenoterapia, existen algunos fármacos que han demostrado ser útiles a la hora de paliar sus efectos, como los agonistas B₂ y los anticolinérgicos.

Palabras Claves— EPOC, pulmonar, obstructiva, broncodilatador, oxigenoterapia.

1. ¿QUÉ ES LA EPOC?

La enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) es una enfermedad prevenible y tratable que se caracteriza por la limitación del flujo de aire al interior de los pulmones que no es reversible y que no cambia pasados unos meses. Normalmente esta limitación es progresiva y se asocia a una respuesta inflamatoria anormal de los pulmones a partículas nocivas (Figura 1).^[1]

La EPOC engloba dos enfermedades pulmonares: bronquitis crónica y enfisema pulmonar. En la bronquitis crónica los bronquios se inflaman obstruyendo el flujo de aire a los pulmones y además aumenta la secreción mucosa, lo que también obstruye las vías respiratorias. En el enfisema pulmonar los bronquiolos crecen de tamaño permanentemente y se destruye la pared alveolar, lo que hace que las vías respiratorias se colapsen.^[1]

La principal causa de la EPOC es la exposición al humo del tabaco, ya sea como fumador activo o pasivo, aunque otros contaminantes ambientales e industriales también pueden producir EPOC en personas que no han fumado nunca. Otros factores asociados a esta enfermedad son el sexo, factores genéticos, la dieta y el estatus socioeconómico.^[1]

2. ¿QUÉ LA CAUSA?

Los mecanismos patológicos que causan EPOC no están claros pero se caracterizan por una respuesta exagerada inflamatoria que produce lesiones en los pulmones. Esto provoca un aumento en la activación de neutrófilos y macrófagos, que producen demasiadas proteasas y elastasas como para que puedan ser contrarrestadas por los inhibidores de proteasas y producen daños en el tejido conjuntivo, destruyendo el pulmón. Otro tipo celular implicado en el proceso de inflamación excesiva son los linfocitos CD8+ citotóxicos, que se encuentran en mayor número en fumadores con EPOC que en fumadores que no padecen esta enfermedad.^[2,3]

Estos cambios patológicos pueden darse tanto en las vías respiratorias centrales como en las periféricas.

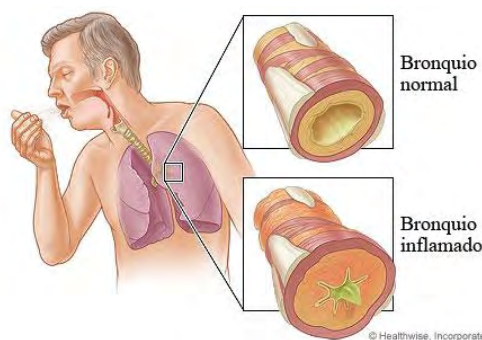


Figura 1. Esquema de la inflamación anormal que se produce en la EPOC.^[4]

3. TRATAMIENTO

El tratamiento general usado contra esta enfermedad es la oxigenoterapia, aunque también se usa terapia broncodilatadora basada en la administración de fármacos, principalmente con agonistas B₂ y anticolinérgicos.^[1]

3.1 Tratamiento con fármacos

Los agonistas Beta (B₂) los hay de dos tipos: de corto y largo alcance. Los de corto alcance que se prescriben de forma más habitual son el salbutamol y la terbutalina. Actúan sobre los receptores B₂ en el músculo liso bronquial y hacen que se relaje y se produzca broncodilatación. También se cree que mejoran la depuración mucociliar. Normalmente tardan en actuar 5-15 minutos y su efecto dura 3-5 horas, por lo que necesitan ser aplicados al menos 4 veces al día de forma regular. Por este motivo se usan principalmente como analgésicos para proporcionar alivio sintomático inmediato.^[1]

Los agonistas B₂ de largo alcance incluyen al formoterol y al salmeterol. Suelen tardar más en actuar que los de corto alcance, por lo que no se utilizan como calmantes y su acción dura aproximadamente 12 horas. Son útiles para pacientes que requieren broncodilatadores de forma regular, ya que su acción dura más tiempo y es más efectiva.^[1] Entre los efectos secundarios de los agonistas B₂ encontramos temblores, tensión nerviosa, dolor de cabeza, calambres musculares y taquicardia, aunque son mínimos cuando se inhalan las dosis recomendadas.^[1]

Los anticolinérgicos actúan bloqueando los receptores colinérgicos en las vías respiratorias, provocando una activación colinérgica reducida del músculo liso bronquial y produciendo broncodilatación. Además se cree que reducen la secreción de moco en las vías respiratorias. También se clasifican según sean de corto o largo alcance. Su efecto llega poco después de ser aplicados como aerosol (unos 30-60 minutos) y dura 3-6 horas. Un anticolinérgico de corto alcance es el ipratropium, que necesita ser aplicado de tres a cuatro veces al día, y el único de largo alcance disponible es tiotropium, que sólo necesita aplicarse un vez diaria.^[1,5]

Los principales efectos secundarios de los anticolinérgicos son boca seca, visión borrosa, dolor de cabeza, retención urinaria, náuseas y estreñimiento. Sin embargo, como en el caso de los agonistas B₂, los efectos son mínimos si se usan las dosis adecuadas.^[1]

Otros tipos de fármacos usados para paliar los síntomas de la EPOC son los corticoesteroides (inhalados y orales), la teofilina y los mucolíticos.^[1]

Los corticosteroides han demostrado ser eficaces en la reducción de la frecuencia de las crisis en pacientes con EPOC grave. La vía de administración preferible es la inhalada porque se minimizan los efectos secundarios, aunque también se administran de forma oral.

Cuando los corticosteroides inhalados se usan junto con broncodilatadores de largo alcance el efecto es mayor que cuando se aplican dichos fármacos por separado, proporcionando un mayor control de la disnea. Por este motivo, el uso de estas combinaciones suele reservarse para pacientes cuyos síntomas no desaparecen tras aplicar sólo el broncodilatador.

Los corticosteroides orales, como la prednisolona, se recomiendan para aquellos enfermos de EPOC con una disnea significativa que afecta a sus actividades diarias y para los pacientes hospitalizados.

Como se ha dicho anteriormente, los corticosteroides inhalados producen menos efectos secundarios que los orales, aunque entre ellos podemos encontrar supresión adrenal, disminución de la densidad mineral ósea (que causa predisposición a la osteoporosis), aumento de peso y edema.^[1]

La teofilina es una metilxantina que actúa como un broncodilatador débil. También se cree que mejoran la depuración microciliar, al igual que los agonistas B₂, y que aumentan la fuerza diafrámatica. No se puede usar en concentraciones altas porque existe mucho riesgo de toxicidad, pero cuando se usa a bajas concentraciones el efecto obtenido puede ser mínimo. Esto hace que cuando se aplica haya que monitorizar sus niveles en sangre, sobre todo en los casos en los que se sospeche que se pueden alcanzar niveles de toxicidad. Generalmente se reserva a pacientes que no hayan mejorado con otros tratamientos que estén más optimizados.

Los principales efectos secundarios son náuseas, molestias gastrointestinales, dolor de cabeza, insomnio, taquicardia, palpitaciones, arritmias y convulsiones.^[1]

Los mucolíticos actúan reduciendo la viscosidad del esputo. Algunos mucolíticos orales, como la carbocisteína y la mecisteína han demostrado reducir las crisis de los enfermos de EPOC. Se reservan a pacientes con tos crónica.^[1]

No se suelen dar efectos secundarios, pero cabe posibilidad de irritación gastrointestinal y erupciones en la piel.^[1]

3.2 Oxigenoterapia

La terapia con oxígeno a largo plazo debe acompañar siempre cualquier tratamiento contra la EPOC, pues mejora la calidad de vida de los enfermos. Las evidencias indican que al aplicar oxigenoterapia durante aproximadamente 15 horas al día disminuye la mortalidad en pacientes con EPOC, aunque los riesgos de su uso no han sido realmente evaluados (existen datos muy limitados que sugieren que aumenta el riesgo de hospitalización). Suplementar oxígeno en altas concentraciones puede dar lugar a la acumulación de dióxido de carbono, lo que conlleva la acidificación de las vías respiratorias, aunque cuando esto ocurre suele poder solucionarse administrando una dosis más baja. Esta terapia puede tener un riesgo adicional para los pacientes fumadores.^[6]

REFERENCIAS

- [1] Blackler et al. "Managing Chronic Obstructive Pulmonary Disease." *John Wiley & Sons Ltd*, 2007.
- [2] Athanazio. "Airway disease: similarities and differences between asthma, COPD and bronchiectasis." *Clinics*, vol. 67, no. 11, pp. 1335-1343, 2012.
- [3] Saetta et al. "CD+ T-Lymphocytes in Peripheral Airways of Smokers with Chronic Obstructive Pulmonary Disease." *Am J Respir Crit Care Med* vol. 157, pp 822-826, 1998.
- [4] <http://www.ofil.org.ar/2012/07/identifican-varios-tipos-de-epoc/>
- [5] Yoshimura K. et al. "Effects of tiotropium on sympathetic activation during exercise in stable chronic obstructive pulmonary disease patients." *International Journal of COPD*. vol. 7, pp. 109-118, 2012.
- [6] COPD Working Group. "Long-Term oxygen therapy for patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD): An evidence-based analysis." *Ontario Health Technology Assessment Series*, vol. 12, no. 7, 2012.



Sofía Doello Román. Estudiante de quinto curso de la licenciatura en biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

Nuevas perspectivas en la vacuna Anti-VPH

Rocío Gaudioso Pedraza

Resumen—El virus del papiloma humano es el causante de la enorme mayoría de los cánceres de cérvix, convirtiéndolo en la segunda neoplasia con mayor incidencia en mujeres. Durante los últimos años se han desarrollado distintas vacunas que prometen proteger a las mujeres, que todavía no hayan estado expuestas al virus, al desarrollo de cáncer por infección. Con dos preparados en el mercado y su aceptación en el ámbito profesional y social las nuevas investigaciones están centrándose en encontrar vacunas menos específicas, con una protección más duradera y lo más importante: más baratas de producir y administrar. Con este fin varias vacunas basadas en la ingeniería genética o la exposición de antígenos específicos en bacterias no modificadas verán la luz en las próximas décadas.

Palabras Claves— VPH; vacuna; cáncer de cérvix



1. INTRODUCCIÓN

El tipo de cáncer causado por la infección del virus del papiloma humano con mayor prevalencia es el cáncer cervical, siendo otros tipos de cáncer con mucha menor presencia en los cuadros médicos el de pene o ano (figura 1).

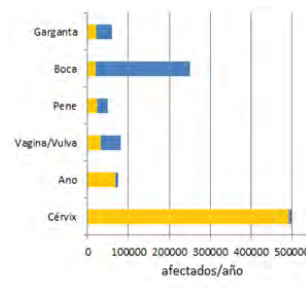


Figura 1: Cánceres provocados por VPH en relación con los totales. [1]

Se calculan un número aproximado de 50000 muertes anuales causadas por este tipo de cáncer [1], causados por un pequeño grupo de virus con alto riesgo oncogénico.

Al ser un cáncer de origen vírico la prevención podría venir de la mano de la estimulación [2] del sistema inmune mediante la exposición de anticuerpos específicos de la cápsida del virus. [3] Numerosos años de investigación, avalados y supervisados por la Organización Mundial de la Salud, han posibilitado la salida al mercado de una estrategia de prevención de la infección de este virus, relacionado con el 5% de todos los cánceres conocidos hasta el momento. [2]

2. LA VACUNA ANTI-VPH

Las últimas generaciones de vacunas no contienen ningún rastro de ADN viral, por lo que su capacidad infectiva

queda totalmente anulada, aumentando en gran medida la seguridad de la vacuna. Se basan en la respuesta inmune del cuerpo humano ante virus-like particles, VLP, partículas no infecciosas al no presentar ADN pero capaces de generar respuesta inmune. [5]

Actualmente hay dos presentaciones comerciales de esta vacuna: Gardasil y Cervarix. El primer preparado es denominado por las farmacéuticas como tetravalente, al prevenir la infección de 4 tipos de VPH, en concreto 6, 11, 16 y 18. Por otra parte, Cervarix 'tan sólo' protege ante dos: 16 y 18, los considerados altamente oncogénicos. Se calcula que con la administración de todas las dosis de estas vacunas se previene la infección durante un tiempo aproximado de 20 años. Al ser la causa más común de contagio los encuentros sexuales se recomienda la administración de la vacuna a personas, tanto mujeres como hombres, que no sean sexualmente activos, ya que tan sólo de esa manera se 'asegura' que no se hayan visto expuesto hasta el momento al virus. También se recomienda su distribución a mujeres sexualmente activas, ya que aunque hayan tenido oportunidad de estar en contacto con el virus también es posible que no, por lo que la vacuna seguiría protegiéndola en el futuro. [5]

Otra dificultad reside es lo que podríamos denominar 'cultura de vacunación'; al ser ésta una vacuna con 3 dosis inyectadas a lo largo de 6 meses es necesario que tanto el personal sanitario como las mujeres que reciban la vacuna entiendan la necesidad de continuidad que tiene este tratamiento.

Por todas estas razones se está haciendo cada vez más urgente la búsqueda de vacunas alternativas que sean más eficientes, económicas y cuya administración sea la adecuada en todos los países que la requieran.

Una de las nuevas vacunas que están siendo objeto de estudio se basa en la utilización de la proteína vírica L2, en lugar de la L1. Esta proteína despierta una respuesta inmunitaria menor que la L1, pero es también menos específica, por lo que sería activa para un mayor número de VPH diferentes. [3]

3. NUEVAS PERSPECTIVAS

Se está estudiando la fusión de varias unidades de L2, provenientes de varios VPH, de forma que se genere una cadena polipeptídica capaz de ser expresada sin problemas en *Escherichia coli*. [3] Este trabajo de ingeniería genética y expresión de proteínas recombinantes no ha sido posible utilizando la proteína vírica L1, lo cual encarecía el proceso. Al ser posible la expresión y síntesis bacteriana el proceso de producción se abarata y simplifica muchísimo.

Por otra parte se están haciendo importantes avances en vacunas cuyas dianas de actuación son las proteínas víricas E7. Como ya hemos visto, estas proteínas impiden el buen funcionamiento del ciclo celular de la célula infectada. En el proceso infectivo del virus, anticuerpos anti-E7 son inservibles, ya que cuando aparezca la proteína la infección ya está muy avanzada y el virus se encuentra en el interior celular.

Sin embargo, existen células del sistema inmunológico cuyo fin es matar a células que presenten indicios de tumor. Las vacunas basadas en estos principios contienen proteínas E7 de los cinco virus más frecuentes junto con una doble cadena de RNA vírico, [3] que funcionaría como señal de la presencia del patógeno. Estas partículas juntas provocan y estimulan el sistema inmune, activando a las células del sistema inmune anteriormente mencionadas. La principal ventaja de esta vacuna, temporalmente llamada Pentarix, es que es mucho más estable que sus predecesoras al ser su principal constituyentes proteínas completas y no subunidades peptídicas. De esta manera se elimina en gran medida las condiciones restrictivas de almacenamiento, facilitando su administración en países en vías de desarrollo. [7]

Por otra parte, se están estudiando vacunas cuya administración no sea del tipo sistémico, sino a través de mucosas (vía oral, nasal, vaginal...). Estos tipos de preparados facilitan su administración, pero podría provocar reacciones inmunogénicas cruzadas. [7] Utilizando como chasis bacterias no inmunogénicas ni patógenas como son *Lactococcus lactis*, se pretende la exposición de antígenos víricos en sus paredes bacterianas. Además, se tratan de bacterias no modificadas, por lo que su utilización en seres humanos no conllevaría riesgo alguno. Los ensayos en ratones son más que prometedores. [8]

4. CONCLUSIONES

Se espera que esta nueva generación de vacunas comiencen la fase I de pruebas clínicas a principios del 2013, pudiendo de esta manera solventar los problemas de mercado en el futuro de estas vacunas.

Esta segunda generación de vacunas que protegen frente a un mayor espectro de HPV tiene el potencial de mejorar en gran medida la prevención del cáncer. La co-infección con diferentes tipos de VPH o tipos no identificables HPV pueden disminuir la efectividad de las vacunas actuales, pero preparados con efectos cruzados podrían disminuir los riesgos en este tipo de infecciones. [5]

REFERENCIAS

- [1] Parkin DM (2006). «The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002». *Int. J. Cancer* 118 (12): pp. 3030-44.
- [2] Christensen ND. Emerging human papillomavirus vaccines. *Expert Opin Emerg Drugs*
- [3] W.-K. Chen, *Linear Networks and Systems*. Belmont, Calif.: Wadsworth, pp. 123-135, 1993. (Estilo para libro) Kiatpongson S, Potential benefits of second-generation human papillomavirus vaccines.
- [4] Katharine Sanderson.. A durable design vol 488 | nature | s7
- [5] NCCC National Cervical Cancer Coalition. Consultado 26/11/12
- [6] R.Roden How will HPV vaccines affect cervical cancer?. *Nature Reviews Cancer* 6, 753-763
- [7] A Novel Mucosal Vaccine Based on Live Lactococci Expressing E7 Antigen and IL-12 Induces Systemic and Mucosal Immune
- [8] L.Bermudez Responses and Protects Mice against uman Papillomavirus Type 16-Induced Tumors *The Journal of Immunology*



Rocío Gaudioso Pedraza estudiante de 5º de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

La Tuberculosis

Irene Calvo Montes

Resumen— Actualmente se trata de una enfermedad curable siempre y cuando se diagnostique a tiempo y se siga un cuidadoso y prolongado tratamiento que abarca el uso de diferentes fármacos, tanto de primera como de segunda línea. Frente a cepas multirresistentes se siguen investigando medicamentos a los que el bacilo no adquiera resistencia. Además se investiga para generar vacunas seguras y que eviten una recaída en la enfermedad latente.

Palabras Claves— Bacilo de Koch, mycobacteria, multidrogorresistente, ácido micólico, macrófago

La tuberculosis es una enfermedad basada en la infección bacteriana que produce el complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Principalmente ataca a los pulmones, provocando la conocida tuberculosis pulmonar, pero puede afectar a otros órganos o sistemas del individuo.

Los cultivos de *M. tuberculosis* o bacilo de Koch son bacterias resistentes a los ácidos, los álcalis y los desinfectantes, además de a la desecación y la congelación. Por ello, son capaces de sobrevivir durante semanas sobre objetos inanimados siempre que no incida sobre ellas la luz solar, a la que sí son sensibles.

La enfermedad se transmite entre las personas a través del aire, debido a las gotas infecciosas que se expulsan con los estornudos, la tos o el habla. Sin embargo, una persona puede estar infectada sin padecer la enfermedad. Este riesgo aumenta en personas con un sistema inmunitario dañado, como es el caso de enfermos seropositivos infectados con VIH, pacientes con desnutrición o diabetes o fumadores de tabaco. [1]

Ante la exposición del patógeno, el sistema inmunitario activa la respuesta por medio de macrófagos, que deben fagocitarlos y así eliminarlos. Los macrófagos alveolares son incapaces de eliminarlos el 30% de los casos debido al alto contenido en lípidos de su membrana celular. Así, el bacilo crece y se replica en el interior del macrófago y como consecuencia se activa la respuesta inmune del hospedador por medio de linfocitos T. Histopatológicamente, en el foco de la infección se forma un granuloma, tejido constituido por macrófagos y linfocitos que rodea un área central de tejido necrótico. En este granuloma se crea un ambiente hipóxico que mantiene bajos los niveles de replicación bacteriana. Así se adquiere la inmunidad al bacilo, ya que los macrófagos pueden activarse y llegar a destruir el bacilo.

Sin embargo, las lesiones necróticas pueden permitir la presencia *M. tuberculosis* de forma extracelular, adaptados a áreas que presentan microambientes con bajos niveles de oxígeno y protegidos de la respuesta inmune del hospedador, donde pueden adquirir resistencia a los agentes microbicidas y los fármacos. Es entonces cuando los bacilos resistentes son drenados al espacio alveolar y reactivan su crecimiento, reactivando la enfermedad latente. [2]

Para alcanzar un pronóstico favorable en el tratamiento de la tuberculosis resulta esencial un diagnóstico tem-

prano, el reconocimiento de la cepa específica y el análisis del bacilo con respecto a su resistencia a los fármacos y así descartar ciertas cepas multidrogorresistentes. Además es indispensable seguir el tratamiento de forma correcta, ya que si se suspende de forma prematura, la enfermedad empeora y se favorece la proliferación de bacilos multirresistentes a los medicamentos. [3]

M. tuberculosis tiene un tiempo de generación prolongado y es capaz de entrar en fase de latencia, donde su actividad metabólica disminuye al mínimo, lo que dificulta el ataque de los antimicrobianos. Por otra parte, la mycobacteria puede alojarse en tejidos donde los medicamentos penetran fácilmente, o en cavidades pulmonares o pus, donde el acceso es más difícil. [4]

Actualmente los fármacos de primera línea que se utilizan son la isoniacida, el etambutol, la rifampicina, la piracinamida y la estreptomina. La isoniacida, que inhibe la síntesis de la pared bacteriana a nivel de los ácidos micólicos. Se trata de un pre-fármaco, que se activa con la presencia de una enzima micobacteriana. La piracinamida tiene actividad tuberculicida sólo en medio ácido, por lo que su eficacia es máxima en medio intracelular, dentro de los macrófagos que están procesando las micobacterias. Estudios *in vitro* han puesto en evidencia su capacidad de bajar el pH de modo que las micobacterias no pueden crecer.

El etambutol tiene acción bacteriostática, ya que suprime la proliferación de los bacilos en crecimiento, ya resistentes a isoniacida y estreptomina. Para ello bloquea la incorporación de ácido micólico a la pared micobacteriana además de inhibir la síntesis de arabinogalactano. La rifampicina es un antibiótico de amplio espectro, bactericida contra formas intracelulares así como extracelulares. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la síntesis de RNA mensajero bacteriano tras unirse a la subunidad beta de la RNA polimerasa dependiente de DNA. Finalmente, la estreptomina es un antibiótico de tipo aminoglucósido, bactericida de pequeño espectro desarrollado a partir de la actinobacteria *Streptomyces griseus*. Esta sustancia se transporta a través de la membrana de la bacteria hasta llegar a las subunidades 30S de los ribosomas, donde interacciona con el complejo de iniciación e inhibe la lectura del RNA mensajero. Así se traduce el DNA de forma errónea, dando lugar a proteínas no funcionales, de modo que se aumenta el transporte de aminoglucósidos y se rompe la membrana citoplásmica y se consigue la muerte celular. Sin embargo, la estreptomi-

cina no penetra bien en el interior de las células, por lo que sólo ataca a bacilos extracelulares. [5]

Las mycobacterias, al igual que otros agentes microbianos, adquieren resistencia a los antibióticos por mutaciones en su genoma. Cuando esto ocurre, se comienza con los antibióticos de segunda línea, que causan efectos secundarios más severos pero que ayudan a combatir la infección de forma más agresiva. Entre ellos, los más usados son el ácido paraaminosalicílico, la cicloserina, la etionamida, los aminoglicósidos y las fluoroquinolonas.

En cuanto al ataque de las mycobacterias a nivel de su membrana, cuando estamos ante poblaciones resistentes a isoniácida, los fármacos usados son las etionamidas, que inhiben la síntesis de ácidos micólicos y estimula las reacciones de oxidorreducción y la cicloserina, que interfiere en la síntesis de la pared de peptidoglicano. A nivel del núcleo, para atacar a cepas resistentes a rifampicina, se usa el ácido paraaminosalicílico, un antibiótico activo frente a poblaciones de crecimiento extracelular, en las que inhibe la síntesis de precursores del DNA. Las fluoroquinolonas actúan sobre la DNA girasa, encargada de reducir la tensión molecular en el superenrollamiento que se da en el DNA durante su replicación. Contra el ribosoma se usan péptidos cíclicos que inhiben la síntesis de proteínas y aminoglicósidos (amicacina, kanamicina, capreomicina y viomicina), ambos administrados por vía intramuscular. Existen nuevos fármacos en desarrollo como son la SQ-109 y los nitroimidazoles, que actúan a nivel de la pared celular; macrolidas y oxozolidones, que inhiben el complejo ribosomal y la diarilquinolina, que inhibe la síntesis de ATP. [4], [6].

Con respecto a las vacunas para prevenir la tuberculosis, actualmente tenemos la BCG, que se compone de bacilos vivos atenuados de una cepa de *M. bovis*. Dependiendo de los estudios realizados, se estima que su eficacia varía entre un 0 y un 83%. Por ello, se recomienda su uso sistemático en países donde la prevalencia es alta, así como la mortalidad por complicaciones graves de infección primaria. En España, sin embargo, no está indicado su uso sistemático, excepto en trabajadores sanitarios en continua exposición a la enfermedad. [7]

La vacuna RUTI® se encuentra en fase de desarrollo clínico y se compone de *M. Tuberculosis* fragmentado, tras eliminar las partes tóxicas del bacilo. Las investigaciones que han dado como resultado esta vacuna se centran en la baja velocidad de crecimiento del bacilo, que le permite evitar la respuesta inmune del enfermo, los efectos del drenaje fisiológico del aparato respiratorio y el papel de los macrófagos en la propagación del bacilo. Así se ha desarrollado una vacuna terapéutica que evita la reactivación de la tuberculosis tras el tratamiento antibiótico de corta duración y que impide que los bacilos latentes escapen del sistema inmune. [8]

En definitiva, vemos que se trata de una enfermedad curable, pero es esencial la combinación correcta de medicamentos que ataquen desde diferentes puntos, de modo que se evite la resistencia a los fármacos por separado.

REFERENCIAS

[1] Organización Mundial de la Salud:

[Http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/index.html)

[2] [Http://scielo.sld.cu/scielo.php?Pid=S1025-028X2009000300004&script=sci_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?Pid=S1025-028X2009000300004&script=sci_arttext)

[3] http://es.wikipedia.org/wiki/Tuberculosis#Patogenia_de_la_tuberculosis

[4] Pere Coll. Fármacos con actividad frente a *Mycobacterium Tuberculosis*. (2003) Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Departamento de Genética y Microbiología. Universidad Autónoma de Barcelona. España

[5] Formulario Nacional de Medicamentos. <http://fnmedicamentos.sld.cu/index.php?P=Home>

[6] National Institute of Allergy and Infectious Diseases. <http://www.niaid.nih.gov/topics/tuberculosis/understanding/whatistb/scientificillustrations/pages/firstlineillustration.aspx>

[7] Tuberculosis: vacuna BCG, Dr. Joan Pericas Bosch, Asociación Española de Vacunología

[8] Noticias Médicas: [Http://www.portalesmedicos.com/noticias/vacuna_ruti_tuberculosis_070346.htm](http://www.portalesmedicos.com/noticias/vacuna_ruti_tuberculosis_070346.htm)



Irene Calvo Montes estudiante de 5º curso de la licenciatura en Biotecnología, Facultad de Ciencias Experimentales de la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

Furanocumarinas y su aplicación en fotoquimioterapia

Rosa M^a Jiménez Alejandre

Resumen— Las furanocumarinas son compuestos de origen vegetal y de alto interés farmacéutico, capaces de interactuar con la radiación ultravioleta produciendo un efecto fotosensibilizante sobre las células. Son usadas en el tratamiento de varias enfermedades de la piel como la psoriasis, el vitiligo y el linfoma T cutáneo; además, se usan como protectores solares en preparaciones cosméticas. Numerosos estudios reportan la incidencia de estas sustancias naturales en procesos vitales para el hombre como la mutagenicidad, la carcinogenicidad y la inhibición de tumores.

Palabras Claves— Furanocumarinas, fotosensibilidad, PUVA, psoraleno, psoriasis, linfoma T cutáneo.

Las cumarinas son metabolitos secundarios que provienen de la ruta del ácido shikímico y derivan de la 2H-1-benzopirán-2-ona, una lactona del ácido hidroxicinámico. Las furanocumarinas presentan un anillo de furano junto al benceno en las posiciones 6 y 7 para las lineales (Psoralen) en la figura 1, y 7 y 8 para las angulares (Angelicina). El anillo furánico procede de la vía acetato-mevalonato.

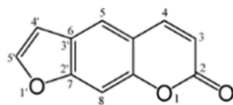


Fig. 1. Molécula de Psoraleno.

El origen natural de estas moléculas está restringido a las plantas, figura 2, y su mayor concurrencia se presenta en las Rutáceas y Umbelíferas o Apiáceas, y en alimentos como el apio, las zanahorias y la chirivía. Su función dentro del metabolismo de estas plantas se enmarca dentro de los mecanismos de defensa que poseen frente a los herbívoros polífagos y a los hongos patógenos. Sin embargo, también es posible su obtención sintética por Condensación de Pekman, seguida de deshidrogenación catalítica.



Fig. 2. Bituminaria bituminosa, presenta en su composición furanocumarinas en forma libre o conjugada con glucosa.

El interés de las furanocumarinas reside en su actividad *fotosensibilizante* sobre las células. Ésta se manifiesta como *fotoxicidad*, alterando y desorganizando multitud de procesos biológicos en diferentes tipos de células, figura 3. La actividad fotosensibilizante de las furanocumarinas se explica fundamentalmente por la reactividad de su estado excitado triplete, que se genera cuando interactúan con la luz ultravioleta, y que puede dar lugar a reacciones de enlace con macromoléculas como RNA, DNA y proteínas, y a fotomodificaciones indirectas a los sustratos biológicos a través de formas reactivas del oxígeno. De estas reacciones derivan efectos como fotodermatitis, carcinogénesis y mutagénesis, disminución de la velocidad del ciclo celular, inhibición del desarrollo de ciertos tumores, variación de la actividad enzimática o aumento de la pigmentación de la piel.

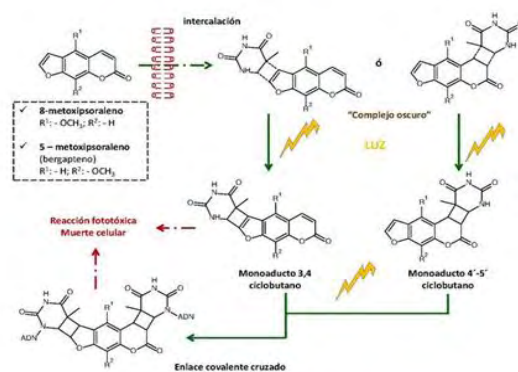


Fig. 3. Mecanismo de fototoxicidad de psoralenos. Formación de la estructura cíclica que enlaza el psoraleno con bases pirimidínicas de DNA.

La actividad fotosensibilizante de las furanocumarinas es aprovechada de forma controlada para su aplicación en los campos biológico y terapéutico. [1]

La aplicación de las furanocumarinas más extendida es

en la *Fotoquimioterapia Psoralénica PUVA* (Psoraleno + UVA), tratamiento que se utiliza en psoriasis, vitiligo y eczemas desde la década de los setenta, sus primeros resultados fueron descritos por el grupo norteamericano liderado por Parrish [2] y el austríaco dirigido por Wolff [3]. Esta terapia consiste en la acción combinada del agente sensibilizante (Psoraleno) y rayos UVA que actúan sobre las células epidérmicas, interfiriendo en los procesos de replicación, lo que disminuye el estado de mitosis en las células y da lugar a la ralentización de la multiplicación celular produciéndose el blanqueamiento de las lesiones. La exposición a rayos UV se efectúa después de la aplicación del psoraleno o dos horas después de su administración, para permitir que, tras la ingesta el fármaco, llegue a la zona de la piel. Las lámparas de U.V. pueden destinarse a irradiar toda la superficie cutánea o solo un área específica, como se observa en la figura 4.



Fig. 4. PUVA regional.

La fotoquimioterapia posee una efectividad media frente a otras terapias más eficaces como el tratamiento con ciclosporina o retinoides, pero aporta la ventaja de poseer una menor toxicidad que estos tratamientos. En la figura 5 se observa un esquema comparativo de diversas terapias según su efectividad y toxicidad.

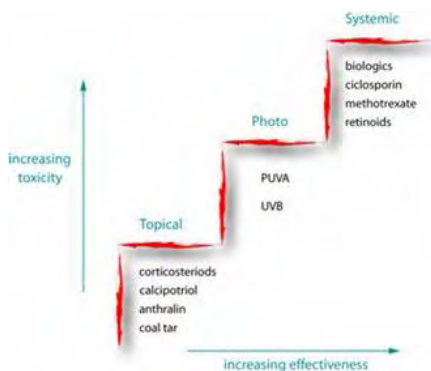


Fig. 5. Esquema comparativo de PUVA en relación con otras terapias.

Aunque al principio la fotoquimioterapia se utilizó principalmente en casos de psoriasis, esta técnica ha evolucionado para tratar enfermedades de excesiva proliferación celular, por ejemplo el *linfoma T cutáneo* [4]. Este tu-

mor se puede tratar con Fotoquimioterapia extracorpórea (FEC), figura 6.

La FEC es una técnica de aféresis que consiste en la recolección de las células mononucleares de sangre periférica que son tratadas con psoraleno y radiación ultravioleta A, y reinfundidas posteriormente al paciente. Se desarrolla así una *respuesta inmune* dirigida contra los linfocitos reinfundidos que es la base más probable del efecto terapéutico de la técnica. La fotoféresis es una indicación de primera línea en las formas eritrodérmicas del linfoma T cutáneo. Sin embargo, también es aplicable en enfermedades autoinmunes, en la prevención y tratamiento del rechazo en el transplante de órgano sólido y en la prevención y tratamiento de la enfermedad injerto contra huésped. Aunque en estos casos la FEC es considerada hoy en día una terapia de segunda línea aplicable a aquellos pacientes refractarios o que no toleren el tratamiento inmunosupresor.

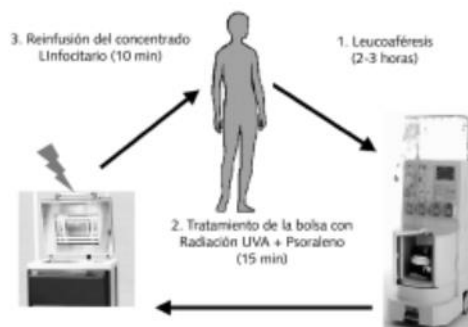


Fig. 6. Procedimiento de FEC.

La FEC continúa en desarrollo y, probablemente, en el futuro, algunas modificaciones de la técnica serán la base para inmunoterapias más específicas y eficaces.

También podemos encontrar aplicaciones de las furanocumarinas más allá de la fotoquimioterapia. Estas moléculas son usadas, por ejemplo, en la preparación de productos solares, ya que favorecen la producción de melanina. Además, un estudio japonés demuestra que derivados de las furanocumarinas presentes en medicamentos Kampo (de la medicina china tradicional), como byakangenicol o rivulobirin A, poseen efectos inhibitorios contra la P-glicoproteína en la barrera hematoencefálica en condiciones in vitro e in vivo [5].

Dado el interés farmacológico/terapéutico de psoraleno, angelicina y sus respectivos derivados, y que en la actualidad no se dispone de un material vegetal con altos contenidos en furanocumarinas, se están desarrollando líneas de investigación dirigidas a maximizar la producción de psoraleno, angelicina y sus respectivos glucósidos en diferentes clones de *B. bituminosa*, con el fin de facilitar los procesos de extracción, y disponer de productos

puros para su uso terapéutico [6].

REFERENCIAS

- [1] Filomena Conforti, Mariangela Marrelli, Federica Menichini, Marco Bonesi, Giancarlo Statti, Eugenio Provenzano and Francesco Menichini. Natural and Synthetic Furanocoumarins as Treatment for Vitiligo and Psoriasis. *Current Drug Therapy*, 2009, 4, 38-58.
- [2] Parrish JA, Fitzpatrick TB, Tanenbaum L, Pathak MA. Photochemotherapy of psoriasis with oral Methoxsalen and long wave Ultraviolet light. *N Engl J Med* 1974, 291:1207-11.
- [3] Wolf K, HÖnigsmann H, Gschnait F, Konrad K. Photochemotherapie bei psoriasis. *Klinische Erfahrungen bei 152 patienten. Dtsch Med Wochenschr* 1975; 100:2471-7.
- [4] J. M. Vagace Valero, N. Alonso Escobar, D. De Argila Fernándezdurán, L. Vargas Pérez2, J. Melero Ruiz, J. M. Morán Penco, R. Bajo Gómez, M. Pérez Miranda. Fotoféresis: nueva terapia inmunomoduladora para enfermedades mediadas por linfocitos T. *AN. MED. INTERNA (Madrid)* Vol. 20, N.º 8, pp. 421-426, 2003
- [5] Kazunori Iwanaga, Shinji Yoneda, Yukimi Hamahata, Makoto Miyazaki, Makio Shibano, Masahiko Taniguchi, Kimiye Baba, And Masawo Kakem. Inhibitory Effects of Furanocoumarin Derivatives in Kampo Extract Medicines on P-Glycoprotein at the Blood–Brain Barrier. *Biol. Pharm. Bull.* 34(8) 1246–1251 (2011). Vol. 34, No. 8
- [6] http://www.icia.es/icia/index.php?option=com_content&task=view&id=3713&Itemid=237&lang=es (Enlace web)



Rosa Mª Jiménez Alejandre
Estudiante de 1º de Biotecnología.

Resveratrol: el antioxidante más poderoso

Alina Georgiana Ioja

Resumen— La palabra 'resveratrol' deriva de la palabra latina *res* ('que procede de'), la planta *Veratrum grandiflorum* (de sus raíces se aisló por primera vez este compuesto, en 1940) y el sufijo 'ol', que indica la presencia de hidroxilos en la molécula. El resveratrol es un polifenol presente en las uvas, algunos frutos secos y el vino tinto y también se produce por síntesis química. Se han atribuido numerosas propiedades beneficiosas a este compuesto. Sus potenciales efectos neuroprotectores son objeto de numerosos estudios en la actualidad.

Palabras Claves—Alzheimer, Lesión cerebral, Lesión medular, Neuroprotección, Parkinson, Sirtuinas.



1. INTRODUCCIÓN

Se ha sugerido que el consumo diario de cantidades moderadas de vino tinto y, por tanto, de resveratrol, explicaría la llamada 'paradoja francesa', según la cual la población del sur de Francia, a pesar de consumir una dieta relativamente alta en grasas saturadas, presenta un reducido riesgo de enfermedad coronaria. A partir de estas primeras evidencias de las propiedades cardioprotectoras del resveratrol, se ha extendido su estudio y ya son muchos los campos en los que se han encontrado efectos biofarmacológicos, incluyendo efectos neuroprotectores en modelos de neurodegeneración, de isquemia y de lesión cerebral y medular, pero aún faltan estudios clínicos en este sentido.

Químicamente, se distinguen dos isómeros, *cis* y *trans* (Figura 1). El resveratrol es una fitoalexina, es decir, un compuesto antiinfeccioso y antioxidante que producen las plantas en concentraciones particularmente altas como defensa natural frente a diversos estresores.

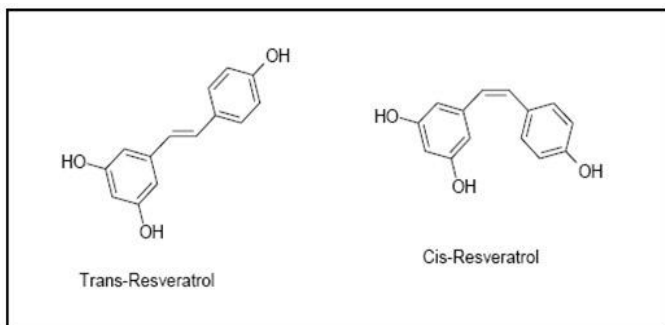


Fig. 1. Estructura molecular del resveratrol. La molécula natural presente en las uvas, algunos frutos secos y el vino tinto es el transresveratrol (trans-3,4', 5'-trihidroxiestilbeno). La exposición a la luz favorece la transformación del isómero *trans* en *cis*, con la consiguiente pérdida de estabilidad y de actividad biológica.

2. FARMACOCINÉTICA: ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN, METABOLISMO Y EXCRECIÓN

La farmacocinética del resveratrol se ha revisado recientemente. El resveratrol se absorbe bien por vía oral,

sin embargo, un factor importante que afecta a la biodisponibilidad del resveratrol es que está sujeto a un extenso metabolismo de primer paso, tanto en el intestino delgado como en el hígado. Las reacciones que disminuyen la biodisponibilidad de resveratrol son reacciones de tipo II, que incluyen sulfatación y glucuronidación. La ingesta concomitante de alimento retrasa la absorción del resveratrol, pero no reduce su biodisponibilidad.

Tras estudios *in vitro* e *in vivo* también se ha sugerido que el resveratrol podría no ser la molécula activa *in vivo*, y ya se ha demostrado la actividad de los metabolitos sulfatados en estudios *in vitro*.

3. DIANAS MOLECULARES Y EFECTOS BIOFARMACOLÓGICOS

El resveratrol es una molécula muy promiscua, de manera que su actividad biológica (y la de sus metabolitos) no se debe a un solo mecanismo de acción, sino que depende de la interacción con varias dianas moleculares.

Asimismo, se han descrito múltiples efectos biofarmacológicos del resveratrol, pero la mayoría de ellos han sido demostrados en modelos animales; los escasos estudios clínicos aun no son concluyentes.

Una de las dianas más estudiadas es SIRT1 (Figura 2) que pertenece a la familia de las sirtuinas (enzimas expresados por los genes *Silent Information Regulator*, conocidos popularmente como genes de la longevidad), y se ha implicado en la regulación de respuestas intracelulares que promueven la supervivencia de la célula, mejoran la reparación del ADN dañado y reducen la división celular. Curiosamente, aunque hay evidencias de actividad *in vitro*, no se ha demostrado interacción directa del resveratrol con esta diana, y las dosis requeridas son inalcanzables con su uso dietético, lo que refuerza el interés de estudiar los mecanismos indirectos de acción del compuesto.

4. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer es la enfermedad neurodegenerativa más común. Las sirtuinas, en particular SIRT1 (Figura 3), desacetilan y controlan la actividad de varios factores de transcripción, entre ellos algunos relacionados con el aprendizaje y la memoria. En el ratón transgénico p25, un modelo de enfermedad de Alzheimer, el resveratrol (Figura 2) reduce la neurodegeneración en el hipocampo y previene el deterioro en el aprendizaje a través de un mecanismo que implica el descenso en la acetilación de PGC-1 (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator) y p53, ambos sustratos para SIRT1. El resveratrol también puede inducir la expresión del factor de transcripción de respuesta temprana de crecimiento (Egr1), implicado en la regulación

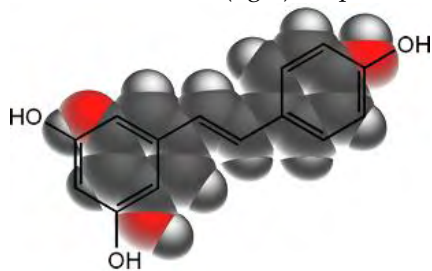


Fig. 2. Modelo molecular del resveratrol.

de algunos aspectos de plasticidad sináptica relacionada con el aprendizaje y la memoria.

Algunos estudios sugieren que el consumo moderado de vino se asocia con una menor incidencia de enfermedad de Alzheimer y con mejoras neurológicas. Finalmente, se ha sugerido que el resveratrol es un inhibidor de acetilcolinesterasa, lo que apoyaría su posible aplicación en esta enfermedad.

5. ENFERMEDAD DE PARKINSON

La enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común después de la enfermedad de Alzheimer. Se caracteriza por una pérdida de neuronas

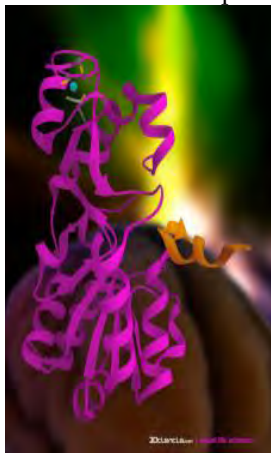


Fig. 3. Estructura de la proteína SIRT1 (fuxia) unida al péptido de p53 que sirve como antígeno celular (naranja). La proteína SIRT1 o sirtuina (es una desacetilasa dependiente de NAD). Afectan al metabolismo celular regulando la expresión de ciertos genes (epigenética) dentro de eucariotas (vegetales y animales).

dopaminérgicas en la sustancia negra y la presencia frecuente de inclusiones intraneuronales, los cuerpos de Lewy, que están formados por agregados de proteína insolubles, principalmente integrados por α -sinucleína.

En modelos experimentales de enfermedad de Parkinson, la administración de una dieta que contiene resveratrol, o el tratamiento con resveratrol en ratón adulto, previo a la administración de la neurotoxina MPTP (causante de parkinsonismo), ejerce efectos neuroprotectores en las neuronas dopaminérgicas.

6. ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

La enfermedad de Huntington es un trastorno hereditario de carácter neurodegenerativo progresivo y de inicio tardío, que conduce a alteraciones en el movimiento y deterioro cognitivo, así como a la muerte prematura, por lo general, alrededor de 20 años después del diagnóstico.

El modelo experimental de esta enfermedad está bien establecido por la administración de la neurotoxina ácido 3-nitropropiónico, un inhibidor del complejo II de la cadena de transporte de electrones mitocondrial. Varios estudios han mostrado los efectos beneficiosos del resveratrol frente a esta toxina; estos efectos podrían deberse a su actividad antioxidante.

En un modelo de enfermedad de Huntington en *Drosophila* se enfatizó que este compuesto natural es muy probable que medie sus acciones neuroprotectoras también a través de otras vías.

7. NEUROPATÍAS PERIFÉRICAS

Las neuropatías periféricas comprenden más de 100 trastornos degenerativos del sistema nervioso periférico

Una de las neuropatías mejor caracterizadas es la diabética. Entre los factores patofisiológicos que producen dicha neuropatía están la hiperglucemia, la insuficiencia microvascular, la hipoxia y el estrés oxidativo. Es razonable pensar que el resveratrol, por su acción antioxidante, pueda ser efectivo en esta neuropatía. Los estudios in vitro e in vivo sugieren que el efecto del resveratrol en la neuropatía diabética se debe a la reducción del estrés oxidativo.

8. NEUROPROTECCIÓN EN PROCESOS TRAUMÁTICOS E ISQUÉMICOS

Las lesiones medulares afectan a la persona, la familia y la sociedad, y producen un alto impacto biopsicosocial. Aunque hay estudios experimentales prometedores, aún no hay tratamientos efectivos en este tipo de lesiones. En modelos animales, el resveratrol protege la médula de la isquemia-reperusión (I/R). Aunque se desconoce el mecanismo por el que se produce este efecto, podría deberse a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiapoptóticas. El efecto antioxidante se ha demostrado en

lesiones medulares.

La apoptosis, necesaria durante el desarrollo, también ocurre tras lesiones cerebrales y medulares, y contribuye a la pérdida neuronal. El resveratrol, administrado tras la lesión, disminuye la apoptosis neuronal en la médula. Además, eleva la expresión de genes implicados en los procesos de apoptosis, y así aumenta la recuperación neurológica.

Por último, en estudios histológicos, el resveratrol ayuda a mantener la estructura del tejido y promueve la recuperación de la función neurológica en ratas con lesión medular. En estas ratas, el resveratrol mejoró la función locomotora a las 24, 48 y 72 horas tras la lesión medular.

9. NEUROPROTECCIÓN EN PROCESOS TRAUMÁTICOS E ISQUÉMICOS

Al igual que las lesiones medulares, los traumatismos cerebrales constituyen un importante problema clínico, con alta mortalidad y morbilidad.

En un modelo de traumatismo cerebral por impacto cortical controlado, se ha visto que la administración post-traumática de resveratrol reducía el déficit motor y cognitivo, mejoró la actividad locomotriz y exploratoria, y también redujo la ansiedad y mejoró la capacidad para reconocer objetos, que se relaciona con la memoria.

Aunque los mecanismos específicos por los cuales el resveratrol ejerce este efecto neuroprotector aún no están claros, parecen relacionarse con sus propiedades antioxidantes y de captura de radicales libres. Estas actividades las ejerce de forma directa, por la naturaleza polifenólica de la molécula, o de manera indirecta, inhibiendo la cascada inflamatoria.

El daño cerebral debido a infarto cerebral isquémico es la segunda causa de muerte en España, así como la principal causa de discapacidad y la segunda causa de demencia en la población adulta.

El resveratrol podría ejercer un efecto neuroprotector en la lesión por isquemia, mejorando el metabolismo energético del cerebro, y reduciendo el estrés oxidativo a través de la inhibición de la actividad de xantina oxidasa y la prevención de la producción de hipoxantina, xantina y los radicales de oxígeno durante la I/R.

10. CONCLUSIONES

Numerosos estudios preclínicos indican que el resveratrol, componente de la dieta mediterránea, es un tema de actualidad debido a sus efectos en animales y seres humanos.

Los efectos del resveratrol en la esperanza de vida de muchos organismos modelo siguen en controversia, con efectos inciertos en moscas de la fruta, los gusanos nematodos y los peces de corta vida.

En experimentos con ratas y ratones se han descrito efectos beneficiosos anticancerígenos, antienvjecimiento, antiinflamatorios, antifibrótico, disminución de la glucosa

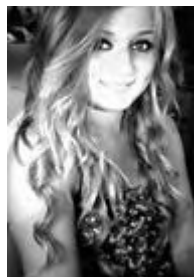
en sangre, hipocolesterolemiante, y otros beneficios cardiovasculares. Como sustancia ergogénica en el deporte, se ha demostrado en animales de experimentación que mejora la capacidad física de los animales sometidos a dietas enriquecidas con este producto. También se investiga sobre su utilidad para la mejora del equilibrio y la movilidad en personas mayores. El resveratrol mitigaría el daño producido por los radicales libres, producto de la degeneración de la dopamina, aumentando la supervivencia celular. La mayor parte de estos resultados aún no se han replicado en los seres humanos.

Es de esperar que, en un futuro próximo, la intensa investigación dirigida al estudio de los efectos de este compuesto proporcione datos clínicos fiables para su uso terapéutico.

No es se trata de vivir más años, sino de vivirlos mejor.

REFERENCIAS

- [1] López-Miranda V, Soto-Montenegro ML, Vera G, Herradón E, Desco M, Abalo R. Resveratrol: un polifenol neuroprotector de la dieta mediterránea. *Rev Neurol* 2012; 54: 349-56.
- [2] Bournival J, Quessy P, Martinoli MG. Protective effects of resveratrol and quercetin against MPP+ -induced oxidative stress act by modulating markers of apoptotic death in dopaminergic neurons. *Cell Mol Neurobiol* 2009; 29: 1169-80.
- [3] Ramassamy C. Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. *Eur J Pharmacol* 2006; 545: 51-64.
- [4] *Biol Pharm Bull.* 2012; 35(3):273-9.
- [5] *Front Pharmacol.* 2012; 3:141. Doi: 10.3389/fphar.2012.00141. Epub 2012 Jul 17.
- [6] Fig. 1. Web Advanced life research. [http:// www.advanceliferesearch.com/Resveratrol](http://www.advanceliferesearch.com/Resveratrol)
- [7] Fig.2.<http://www.vinetur.com/20090813452/un-nuevo-estudio-confirma-el-milagro-del-resveratrol.html>
- [8] Fig. 3. Boahua et al., Resveratrol Rescues SIRT1-Dependent Adult Stem Cell Decline and Alleviates Progeroid Features in Laminopathy-Based Progeria Cell Metabolism Volume 16, Issue 6, 5 December 2012, Pages 738-750 DOI: 10.1016/j.cmet.2012.11.007



Alina Georgiana Ioja es estudiante de segundo curso de la Titulación en Biotecnología.

Inmunoterapia. No hay mejor defensa que la que tenemos por defecto

Alejandro Aguayo Orozco

Resumen—La idea de tratar el cáncer hoy en día sigue distintos caminos en diferentes ámbitos de la investigación, desde la parte más química como la nanotecnología, hasta la más biológica como es el uso de bacterias. Sin embargo, nuestro sistema de defensa por defecto, el sistema inmunológico, posee las armas necesarias para acabar con esta enfermedad, suscitando el interés por el uso de lo que la naturaleza creyó efectivo para acabar con cualquier efecto negativo en el organismo de procedencia exógena o endógena.

Palabras Claves—Citoquina, terapia contra cáncer, anticuerpo recombinante.

1. INTRODUCCIÓN

Las citoquinas como ya sabemos, son moléculas encargadas de realizar comunicación intercelular, quimiotaxis, promueven la proliferación y diferenciación, y otras muchas funciones sobre las células que las han producido. A este respecto las células que las producen son muy diversas, pasando por células adiposas (cuyas citoquinas se denominan adipocinas), hasta llegar a las células del sistema inmune, principalmente las producidas por monocitos (monocinas), linfocitos (linfocinas) y células hematopoyéticas (interleuquinas).

Estas moléculas de bajo peso molecular están implicadas en numerosas rutas de señalización entre células del sistema inmune, indicando la proliferación de las mismas, y ayudando en el proceso de reconocimiento y eliminación del agente patógeno.

Una de las investigaciones que se están llevando a cabo para el tratamiento de cáncer, es la propia estimulación del sistema inmune para que este mismo acabe con las células tumorales. Pero cómo hacerlo, sin señalar donde se encuentra el tumor. Para ello se estudia el uso de citoquinas como terapia contra el cáncer, ya que estas poseen receptores específicos de membrana, a los que se unen, y desde los cuales pueden promover la estimulación del sistema inmune para que afecte a las células tumorales.

Ya se usaron algunas citoquinas, como la interleuquina 2 (IL-2), para el tratamiento de algunas enfermedades como cáncer de melanoma metastásico avanzado. Sin embargo, el uso de las citoquinas no es tan eficaz, ya que al ser moléculas tan pequeñas no se acumulan en las zo-

nas donde queremos que actúen con la eficacia requerida. Y por otra parte, al tener tantos puntos del organismo en los que las células poseen receptores específicos para las citoquinas, estas pueden actuar a nivel de muchos tejidos y órganos, provocando efectos adversos al introducirlas de forma artificial.

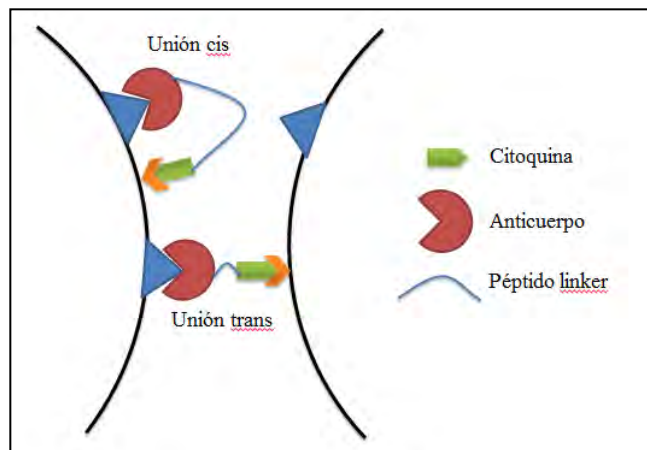


Fig. 1: La citoquina y el anticuerpo quedan unidos a través de un péptido linker. Estas dos moléculas se pueden unir a su receptor y antígeno respectivamente, tanto en cis (en la misma célula) como en trans (en células contiguas).

2. ¿CÓMO HACER QUE LAS CITOQUINAS SE ACUMULEN ALLÍ DONDE QUEREMOS?

Esta es la misma pregunta que muchos investigadores se han hecho, llegando a la conclusión de que si le uniéramos a esta citoquina, alguna molécula que pueda ir dirigida contra la célula que queremos tratar se podría afinar aun más la puntería. Esta molécula es el anticuer-

po, el cual posee la capacidad de unirse tan solo a aquellos antígenos para los que tenga especificidad.

La fusión entre citoquina y anticuerpo (Fig. 1), permite la acumulación en las células tumorales de ambas moléculas, pudiéndose realizar una respuesta inmune localizada y de mayor fuerza. Ya que una vez acumuladas las citoquinas en el lugar de actuación pueden activar la ruta de proliferación de las diferentes células del sistema inmunitario, que llevarán a cabo la degradación de las células marcadas. Como ejemplo, la acumulación de IL-2 en las células tumorales permite la activación de las células NK (Natural Killers), monocitos y células T citotóxicas, además de poder inducir ellas mismas la apoptosis de la célula tumoral.

Esto permite una eliminación del tumor más focalizada, evitando efectos secundarios de los tratamientos convencionales, como la quimioterapia. Además de la eficacia del tratamiento debido a que se trata de una activación del propio sistema inmune.

Este tipo de fusiones son muy variadas, debido a la gran variedad de citoquinas existentes, y a la cantidad de anticuerpos recombinantes o fragmentos de los mismos a los que se pueden unir. Se han conseguido unir a citoquinas a inmunoglobulinas, a fragmentos Fc del anticuerpo y a fragmentos Fab del anticuerpo.

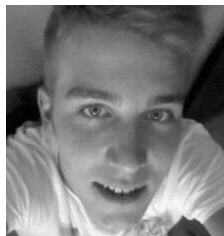
3. PERSPECTIVAS FUTURAS

Ya existen algunas citoquinas aprobadas para el tratamiento de algunos tipos de enfermedades, como por ejemplo la IL-2 que está aprobado su uso para el tratamiento de melanoma metastásico y de carcinoma de células renales metastásicas. Sin embargo, las proteínas de fusión anticuerpo citoquina, se están estudiando hoy en día en ensayos clínicos. La fusión de la IL-2 con IgG se encuentra en la fase II de su desarrollo, y esta fusión permite la unión específica a antígenos expresados en células tumorales, acumulándose allí junto con las citoquinas. Además la vida media en el organismo ha mejorado notablemente, consiguiendo una eficiente supresión de la diseminación y el crecimiento del neuroblastoma humano en ratones.

REFERENCIAS

- [1] Kuby. *Inmunología de Kuby*. Sexta edición (2007). McGraw-Hill Interamericana. 302-324.
- [2] Roland E. Kontermann. *Antibody-cytokine fusion proteins*. (2012) Elsevier.

- [3] J.S.Dela Cruz, T.H.Huang, M.L. Penichet, S.L. Morrison. *Antibody-cytokine fusion proteins: innovative weapons in the war against cancer*. Clin Exp Med (2004) 4:57-6.



Alejandro Aguayo Orozco actual estudiante de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

Anti factor-TNF- α : Inhibiendo la acción de nuestras propias células

Marta San Martín Alonso

Resumen— La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune crónica que afecta a las articulaciones sinoviales y que se presenta en el 1% de la población mundial. Sus efectos pueden afectar considerablemente a la calidad de vida de los pacientes y es por ello por lo que se necesitan medicamentos capaces de paliar y retardar los síntomas hasta que se consiga una cura definitiva.

El anti-factor de necrosis tumoral (anti-TNF- α) se encarga de reducir la inflamación ocasionada por las propias células del organismo, que de alguna manera se desregulan, dañando el tejido y produciendo los síntomas

Palabras Claves— Artritis, reumatoide, TNF- α , autoinmune, tratamiento.



1. INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune, crónica e inflamatoria que afecta a las articulaciones sinoviales. Se caracteriza por generar una inflamación de las mismas así como una infiltración de células derivadas de la sangre, principalmente células T de memoria, macrófagos y células plasmáticas. Todo ello lleva a una progresiva destrucción del cartilago y del hueso. También se piensa que puede estar mediana por la activación de enzimas destructivas: metaloproteinasas. En la figura 1 se muestra una articulación afectada en comparación con una articulación sana. Se observan los distintos tipos celulares y los sitios de destrucción en la articulación.

Como muchas otras enfermedades autoinmunes, es más común en las mujeres que en los hombres, debido posiblemente a la acción de las hormonas femeninas. (1)

Además, la artritis reumatoide es una enfermedad que causa discapacidad progresiva, disminuyendo en gran medida la calidad de vida del paciente. (2)

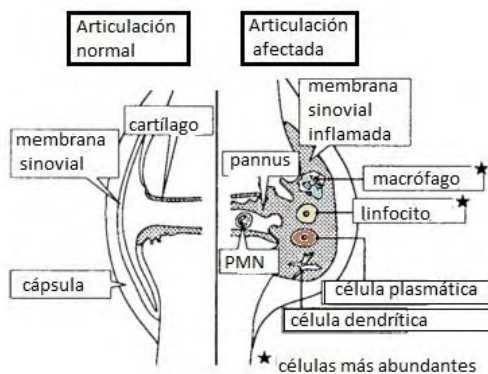


Figura 1. Articulación con artritis reumatoide mostrando las células mayoritarias, comparada con una articulación sana. (PMN= células

polimorfonucleares)(Adaptado de (1)).

2. TNF, EL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL

El factor de necrosis tumoral (TNF) es un miembro de la superfamilia TNF, la cual incluye un gran número de moléculas relacionadas estructural y funcionalmente. Los efectos celulares de esta citoquina son diversos y destacan: proliferación celular, diferenciación y apoptosis.

Sus funciones biológicas están relacionadas con la inmunidad innata y adaptativa. Se sabe que este factor está altamente implicado en la enfermedad debido a que se ha observado una producción excesiva de TNF en el sitio de la inflamación. De ahí a la importancia que presentan las citoquinas como dianas terapéuticas en muchas enfermedades autoinmunes inflamatorias. (3)

Tanto el TNF- α , como otras citoquinas proinflamatorias (interleukinas) pueden ser liberadas a la circulación sistémica. (4)

3. TRATAMIENTO

Gracias al análisis de la compleja regulación de citoquinas en el líquido sinovial de las articulaciones en un cultivo de células, se logró identificar el TNF- α como diana terapéutica. (5)

A partir de ese momento se introdujeron fármacos anti-TNF- α , encargados de reducir en gran medida la inflamación ocasionada, mejorando la actividad física y la calidad de vida del paciente. Tres ejemplos importantes de este tipo de fármacos son: infliximab, etanercept y adalimumab. Con ellos se puede conseguir una regulación de las citoquinas inflamatorias que se estimulan por el TNF- α . (6,7) En la tabla 1 se pueden apreciar las características

principales de los tres fármacos más conocidos anti-TNF- α .

Nos centraremos en comentar dos de ellos: etanercept e infliximab.

3.1. Anti- TNF- α : Etanercept

El agente biológico etanercept es una versión recombinante del receptor humano soluble, factor de necrosis tumoral (sTNFR) aprobado por la FDA para el tratamiento contra artritis reumatoide. El factor TNF es una de las principales citoquinas responsables de la inducción de la inflamación en la enfermedad. En la parte sinovial de la articulación, TNF se une a los receptores de la superficie celular p55 y p75, estimulando la proliferación de células como sinoviocitos y la consiguiente producción de mediadores inflamatorios. Esto lleva al reclutamiento de células inflamatorias y a la progresiva destrucción de la articulación. Los sTNFR, que son receptores reguladores para la actividad inflamatoria de TNF, se describen como versiones truncadas de receptores de membrana de TNF. El papel de sTNFR es prevenir el acceso de TNF a p55 y p75, inhibiendo así la inflamación.

En los pacientes, sin embargo, los sTNFR están reducidos en número, permitiendo entonces una unión excesiva de TNF a sus propios receptores (p55 y p75) con la subsiguiente inducción de la inflamación. Etanercept es un inhibidor competitivo de la unión de TNF a los receptores p55 y p75. (8)

3.2. Anti- TNF- α : Infliximab

Infliximab es un anticuerpo quimérico humano/ratón monoclonal aprobado por la FDA para el tratamiento de la enfermedad de Crohn y de la artritis reumatoide. Este medicamento se une al TNF- α y lo neutraliza. La administración de la droga es una simple infusión intravenosa de 10 mg/kg peso en los pacientes. (8)

4. CONCLUSIONES

A pesar de los progresos en el campo, existen bastantes preguntas sin responder. El éxito del tratamiento basado en el bloqueo de TNF ha llevado a muchos grupos de investigación a considerar la terapia anti-citoquinas como una buena opción.

De consideración importante es estudiar más la fusión entre proteínas y anticuerpos.

Esto podría aumentar el interés de las industrias farmacéuticas y biotecnológicas en terapias basadas en anticuerpos: de hecho una parte considerable de los ensayos clínicos están ahora basados en anticuerpos monoclonales. (9)

Está claro que se necesitan muchos más estudios que fusionen la patología humana con las respuestas de los fármacos en el organismo, así como un mayor entendimiento de los procesos celulares y moleculares que ocu-

rren no sólo en la enfermedad, sino también en la cura de la misma.

REFERENCIAS

- [1] Feldmann et al. Rheumatoid Arthritis. (1996) Cell, Vol. 85, 307-310.
- [2] Scott, D. L., Steer S. The course of established rheumatoid arthritis. (2007) Best Practice and Research Clinical Rheumatology. Vol.21. No 5. Pp 943-967.
- [3] Mewar D. and Wilson A. G. Treatment of rheumatoid arthritis with tumour necrosis factor inhibitors. (2011) British Journal of Pharmacology. 785-791.
- [4] Gonzalez-Gay M. A. et al. Rheumatoid Arthritis: A disease associated with accelerated atherogenesis. (2005) Seminars in Arthritis and Rheumatism. P 8-17.
- [5] Mercer L. K. et al. The influence of anti-TNF therapy upon incidence of keratinocyte skin cancer in patients with rheumatoid arthritis: longitudinal results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. (2012) Ann Rheum Dis. 71: 869-874
- [6] Ábalos Medina G. M. et al. Calidad de vida relacionada con la salud tras terapia anti-factor de necrosis tumoral alfa en pacientes con artritis reumatoide. Un estudio piloto. (2011) Reumatología clínica. 7(3), 167-171.
- [7] Jin J, Chang W.W. Clinical application and evaluation of anti-TNF-alpha agents for the treatment of rheumatoid arthritis. (2010) Ann Rheum Dis. P 1133-1140.
- [8] Ehab S. Pharmacotherapy of rheumatoid arthritis: An overview. (2001) Current Therapeutic Research. Vol 62. p. 92-112.
- [9] Feldmann M. and Maini R. N. TNF defined as therapeutic target for rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. (2003) Nature medicine. P. 1245-1250.



Marta San Martín Alonso estudia 5º curso de licenciatura en biotecnología en la universidad Pablo de Olavide en la actualidad.

TABLA 1
CARACTERÍSTICAS DE FÁRMACOS ANTI-TNF- α

Droga	Estructura molecular	Dosis	Ruta de administración	Efectos adversos
INF(infliximab)	Anticuerpo quimérico monoclonal	3 mg/kg/8semanas	Intravenosa	Infección grave: reacción en el sitio de inyección, hipotensión o dolor de cabeza...
ADA(adalimumab)	Anticuerpo humanizado monoclonal	40 mg cada 2 semanas	Subcutánea	Infección: tuberculosis, infecciones serias, SLE...
ETA(etanercept)	Fusión de proteínas del receptor soluble TNF y la porción Fc de una inmunoglobulina	25 mg dos veces a la semana	Subcutánea	Naúseas, dolor abdominal, dolor de cabeza, dolor de espalda, vómitos, diarream hipertensión...