

MOLEQLA

nº
3
0

Revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide

ISSN 2173-0903

Portada

Julio Ezequiel Pérez Carbajo

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

Editores de las secciones que aparecen en este número

MoleQla Ambiental: Ana Martín Calvo

MoleQla Celular: Guillermo López Lluch

MoleQla Deporte: Alberto Grao Cruces

MoleQla Educativa: Macarena Esteban Ibáñez

MoleQla Farmacia: Matilde Revuelta González

MoleQla Forense: Antonio Aguilar García

MoleQla Informática: Norberto Díaz Díaz

MoleQla Instituto: Almudena García Sánchez

MoleQla Patrimonio: María Pilar Ortiz Calderón

MoleQla Química: Patrick J. Merkling

Responsables de maquetación de las secciones que aparecen en este número

Cristina Guillén Mendoza

Juan Antonio del Castillo

Almudena García Sánchez

Responsables de Maquetación Global

Rafael Rastroero Prieto

Francisco Araque Frías

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. Merkling



ISSN 2173-0903

Editado el 17 de julio de 2018

Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

Nos metemos ya de lleno en el verano y lo celebramos con un nuevo número de la revista MoleQla. Además de con artículos muy interesantes, este número viene con tres sorpresas. Un relato escrito por un jovencísimo autor, aún en el instituto, que podría convertirse en el primer “fascículo” de una novela, nuevas portadas para la revista y una página web que, gracias a nuestros dos responsables de maquetación, Fran y Rafa, cada vez es mas dinámica, funcional y flexible. Desde la Editorial, os deseamos que disfrutéis este número y que paséis un buen verano. ¡Nos vemos en septiembre!



Los Editores y Maquetadores de MoleQla

ÍNDICE

1. Moleq̃la Ambiental

- 1.1. La tecnolog̃a del eDNA y su potente aplicaci3n en la monitorizaci3n gen3tica de ecosistemas acuáticos

2. Moleq̃la Celular

- 2.1. Base de datos de proteínas: Catalasa
- 2.2. Desarrollo de vacunas contra el Zika
- 2.3. El hermano salvador
- 2.4. La microbiota, forjando el 3rgano invisible

3. Moleq̃la Deporte

- 3.1. Relaci3n entre la autofagia y el ejercicio f3sico

4. Moleq̃la Educativa

- 4.1. El aula natura en los centros educativos

5. Moleq̃la Farmacia

- 5.1. C3ncer g3strico: Nuevos tratamientos
- 5.2. El papel de la Oxandrolona en el tratamiento de personas con quemaduras graves
- 5.3. Inmunoterapia contra la migraña

6. Moleq̃la Forense

- 6.1. ¿Puedo estimar la edad de un f3sil por Carbono-14?
- 6.2. El cobre como veneno

7. Moleq̃la Inform3tica

- 7.1. Big Data y videojuegos
- 7.2. Desarrollo de aplicaciones seguras
- 7.3. Lenguajes para el desarrollo de STR

8. Moleq̃la Instituto

- 8.1. El fin de Eden

9. Moleq̃la Patrimonio

- 9.1. El uso de la imagen digital en la caracterizaci3n de obras pict3ricas
- 9.2. Reflectograf̃a infrarroja para el examen y diagn3stico del Patrimonio Cultural

10. Moleq̃la Qu3mica

- 10.1. Environmental Applications of Sonochemistry
- 10.2. Fitot3xicos como alternativa a herbicidas contaminantes
- 10.3. La qu3mica de los alimentos

La tecnología del eDNA y su potente aplicación en la monitorización genética de ecosistemas acuáticos

Fernando M. Delgado Chaves

Resumen—La monitorización de ecosistemas resulta especialmente útil para controlar las diferentes poblaciones que lo habitan. En ecosistemas acuáticos, esto se ha venido realizando tradicionalmente mediante la captura, identificación, conteo y clasificación de las diferentes especies, requiriendo expertos taxónomos y gran cantidad de trabajo y tiempo. La Tecnología del eDNA surge como un método estandarizado que, si bien no pretende desplazar el trabajo de los taxónomos, promete un análisis exhaustivo del ecosistema, permitiendo la identificación de especies que difícilmente se podrían haber detectado con métodos tradicionales. En esta revisión se comentan los avances con respecto al control tradicional de ecosistemas que supone la tecnología del eDNA, así como algunas de las aplicaciones que se están realizando actualmente y futuras direcciones.

Palabras Claves— eDNA, monitorización de ecosistemas, herramientas moleculares, ecosistemas acuáticos

1. INTRODUCCIÓN

El ADN ambiental (environmental DNA, eDNA en inglés) es ADN nuclear o mitocondrial liberado por parte de un organismo al ecosistema [1]. Dado que las diferentes especies que habitan un ecosistema interactúan constantemente con él, continuamente liberan material genético a su alrededor. Entre las fuentes de eDNA se incluyen heces, moco, gametos, pelo o piel y, como resulta obvio, individuos muertos que desprenden material genético. El eDNA se puede detectar en su forma celular o extracelular (ADN disuelto) [2].

La idea original tras su utilización como herramienta de control y monitorización de ecosistemas [3] surgió del estudio de microorganismos en muestras ambientales, pero se desarrolló para incluir el análisis del eDNA en las muestras para la detección de macroorganismos raros o escurridizos.

El análisis de muestras ambientales usando la tecnología del eDNA ofrece valiosos resultados para el estudio de ecosistemas antiguos y ha sido probado de gran utilidad para la monitorización de la biodiversidad actual en ecosistemas acuáticos y terrestres.

Los métodos con eDNA pueden ser una forma rentable de obtener información básica sobre la abundancia y distribución de las especies que habitan un ecosistema y permitirán que los recursos limitados para la conservación y la experiencia taxonómica se implementen de manera eficiente.

La información del eDNA y de la genética de poblaciones puede proveer de información valiosa, a menudo imposible de obtener de otra forma, para la monitorización de especies y su conservación por su interés ecológico [4].

Además, el análisis del eDNA es particularmente útil contra las especies difíciles de detectar usando métodos convencionales que frecuentemente requieren atrapar a los

individuos, requiriendo a menudo licencias para ello, como es el caso de las especies amenazadas o en riesgo de extinción.

2. LA TECNOLOGÍA DEL EDNA SUPERA A LOS MÉTODOS TRADICIONALES

La monitorización de la biodiversidad de plantas y animales se basa convencionalmente en la detección visual y el conteo. Tradicionalmente, esto a menudo requiere un nivel de experiencia taxonómica que puede ser difícil de acceder rápidamente, requiriendo altos costos, esfuerzos y tiempo [5].

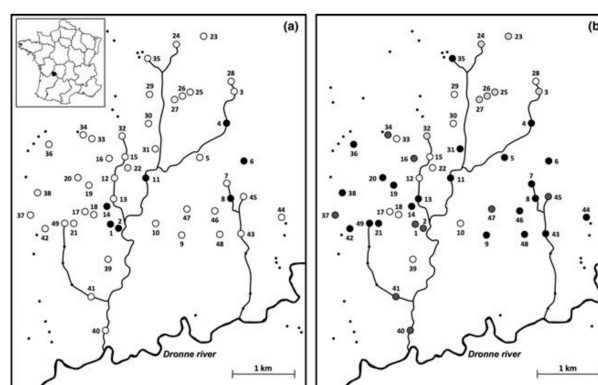


Fig. 1. Ejemplo de la sensibilidad de la tecnología del eDNA. La distribución de la rana toro con sondeos tradicionales (a) vs. Sondeos con ADN ambiental (eDNA) (b). Los círculos rellenos representan los estanques donde se detectó la rana toro americana y los círculos abiertos representan el estanque donde no se detectó la especie [6].

Tradicionalmente, los estudios genéticos en individuos han requerido la captura física y el marcado de una muestra, seguido de la liberación y posterior recaptura de una proporción de animales marcados que significa mucho trabajo y tiempo.

El método de eDNA es valioso para la detección de especies y supera los métodos tradicionales de reconocimiento de anfibios en términos de sensibilidad y esfuerzo en muestreo [8].

Los sondeos de campo pueden subestimar mucho la población real y la distribución de especies. Esto fue demostrado por Dejean et al. en el caso de la rana toro americana, una especie invasora. En la figura 1 se muestra una comparación entre la detección de esta muestra hace un tiempo utilizando encuestas tradicionales frente a los resultados reales del método eDNA, lo que muestra que algunas poblaciones de ranas no fueron detectadas.

2.1. Supervivencia del eDNA

El ADN ambiental puede sobrevivir desde horas a miles de años, dependiendo del entorno ambiental del que se haya obtenido y permite la detección de una sola especie o el análisis de ecosistemas completos.

La conservación del eDNA dentro de los ambientes depende de varias condiciones, por ejemplo, el ADN se conserva mejor en el permafrost en lugar de en ambientes acuáticos [7].

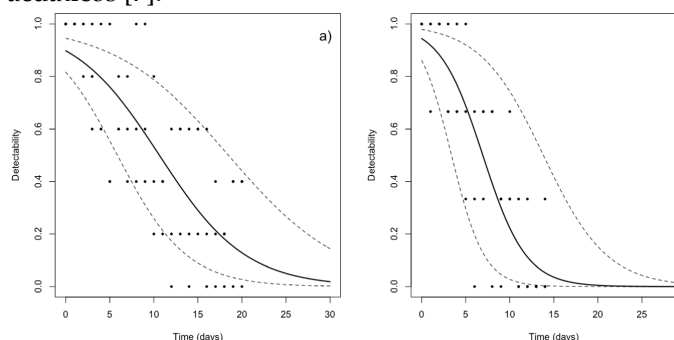


Fig. 2. Detectabilidad de eDNA en agua en función del tiempo transcurrido tras retirar muestras biológicas que desprenden material genético, en condiciones de control (a) y en condiciones naturales (b) [11].

En entornos acuáticos, el eDNA se diluye y distribuye debido a las corrientes y otros procesos hidrológicos, pero solo dura entre 7 y 21 días, según las condiciones ambientales (Fig. 2). Los sedimentos acuáticos (de agua dulce y marina) también han demostrado ser ricos en eDNA [9]. De hecho, el ADN extracelular en los sedimentos marinos es considerado con mucho el mayor reservorio de ADN en los océanos. El ADN de los ambientes acuáticos proviene de las heces, la saliva, la orina y las células de la piel de los animales que habitan en el agua, así como de los animales que visitan el ambiente, como aves y mamíferos [10].

Es probable que el ADN liberado en el medio ambiente se descomponga y con el tiempo se pierda. La exposición a la radiación UVB, la actividad microbiana, el pH, la temperatura y las endo- y exonucleasas pueden degradar el eDNA. Al considerar la tasa de degradación de eDNA, se encuentra que el eDNA permanece intacto más tiempo en condiciones más frías, más oscuras y más alcalinas. Los fragmentos de ADN cortos generalmente se degradan muy lentamente y son los que se pueden recuperar fácilmente de muestras ambientales [11].

El conocimiento de la persistencia del ADN influirá en gran medida en la planificación de los inventarios de biodiversidad y en las encuestas de bioseguridad.

2.2. Recolección tradicional de muestras biológicas en ambientes acuáticos

Diferentes entornos requieren diferentes metodologías de muestreo, pero quedan áreas en las que las metodologías de laboratorio pueden ser estandarizadas para permitir comparar los resultados entre los estudios [2].

En ambientes acuáticos, los sondeos emplean tradicionalmente redes o equipos de electropesca o ecolocalización. En el caso del electrofishing, generalmente tiene bajas probabilidades de captura por organismo objetivo, son indicadores confiables de la presencia de especies solamente presentes en moderada o alta abundancia. No obstante, para las especies poco abundantes, la baja probabilidad de detección de estas herramientas a menudo conduce a un error en la inferencia (falso negativo) [3].

Otra opción es el uso de ecolocalizadores, como C-PODs (Cetacean y Porpoise Detector, Chelonia Ltd., U.K.) [12], para la detección de cetáceos. Estos constan de un hidrófono, un amplificador, una serie de filtros de paso de banda y un registrador de datos que registra continuamente la actividad de pulsos de sonido de los cetáceos. Procesa las señales grabadas en tiempo real y solo registra el tiempo y la duración de los sonidos que cumplen un conjunto de criterios acústicos establecidos por el usuario para que coincidan con las características específicas de los pulsos de ecolocalización del cetáceo en estudio.

Además, las técnicas tradicionales de monitorización a veces han demostrado ser invasivas para la especie o ecosistema en estudio, como los sondeos marinos que se han basado en técnicas altamente destructivas [5]. Sin embargo, la detección de eDNA en comparación con las encuestas tradicionales incluye la incapacidad de distinguir entre organismos vivos y muertos, etapas de vida particulares (huevos, juveniles, adultos) y especies híbridas. Además, a diferencia de los métodos tradicionales en los que se conoce "en tiempo real" dónde y cuándo estaba presente una especie objetivo, las metodologías de eDNA no pueden proporcionar información detallada sobre dónde podrían estar las especies objetivo o sobre cualquier variación de microhabitat. Por ejemplo, los perfiles genéticos en las ballenas pueden obtenerse a partir de biopsias de piel, o muestras fecales oportunísticamente encontradas [10] [13].

Las metodologías de ADN ambiental no deben utilizarse para reemplazar o ignorar el conocimiento y la experiencia de los ecólogos de campo experimentados y los especialistas en taxonomía, sino que deberían convertirse en una herramienta de complementación para mejorar los recursos limitados de conservación.

3. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES POR SU CÓDIGO DE BARRAS

Durante la década de 1990, las ballenas francas del Atlántico Norte disminuyeron significativamente la reproducción y mostraron signos de salud comprometida, lo que provocó el inicio de estudios no invasivos basados en heces

para investigar posibles factores causales [10]. Hay muchos otros ejemplos que muestran claramente la necesidad de monitorear los entornos naturales para prevenir la extinción de especies, la invasión de especies y el mantenimiento de la biodiversidad.

Para lograr esto, se hace uso de marcadores moleculares para la monitorización genética. Se diseñan primers específicos de especies para amplificar el ADN de las muestras que se usan para estudiar la biodiversidad. Por lo general, se utilizan secuencias de ADN estandarizadas y cortas, típicamente de un gen mitocondrial, para identificar y detectar especies [3].

Se usan marcadores de ADN mitocondrial [1] debido al número de copias sustancialmente mayor de mtDNA que de ADN nuclear por célula ya que se trata de ambientes donde el ADN está presente a bajas concentraciones y/o se degrada. La secuencia de códigos de barras perfecta debe ser accesible para la amplificación por PCR con el mismo conjunto estandarizado de primers en todas las especies de interés, y debería ser fácil secuenciar en ambas direcciones.

Para estudiar muestras biológicas, los científicos hacen uso de estos códigos de barras de ADN [14]. Los códigos de barras biológicos ofrecen la oportunidad de expandir la identificación de especies a situaciones fuera del alcance de un taxonomista experto. La codificación de código de ADN es un método taxonómico que utiliza un marcador genético breve en el ADN de un organismo para identificarlo como perteneciente a una especie en particular. Se diferencia de la filogenia molecular en que el objetivo principal no es determinar patrones de relación sino identificar una muestra desconocida en términos de una clasificación preexistente [15].

Se usa la secuenciación masiva del ADN para la identificación molecular simultánea de taxones múltiples en una muestra compleja y se analizan normalmente genes mitocondriales, cloroplásticos o ARN ribosómicos (ARNr) [16]. Estos pueden amplificarse por PCR, secuenciarse y posteriormente usarse como códigos de barras para identificar y discriminar taxones. Si bien el uso de CO1 como un código de barras para animales y algas es ya un estándar bien establecido, esta secuencia parece ser menos adecuada para la distinción de especies de plantas terrestres, ya que es menos variable entre especies y, por lo tanto, hay una brecha más pequeña que separa las diferencias de la variabilidad entre individuos de estas especies.

En las plantas, la búsqueda se ha centrado principalmente en el pequeño genoma residual de los cloroplastos, que es similar al genoma mitocondrial en algunos aspectos. Los resultados muestran que los genes *matK* y *rbcl*, así como la secuencia no codificante *trnH-psbA*, coincidían más estrechamente con los criterios establecidos para una secuencia de códigos de barras ideal [14]. En hongos, se recomienda oficialmente usar la secuencia ITS, un espaciador transcrito interno como marcador molecular [11].

En el caso de entornos acuáticos debido a la rápida degradación del eDNA en el agua, es importante usar un tamaño de fragmento pequeño ya que los fragmentos más grandes tendrán menos probabilidades de persistir el tiempo suficiente para permitir la detección de especies [9].

El software PrimerBlast se puede usar para diseñar primers específicos para la especie objetivo que darán como resultado amplicones basados en registros en GenBank [17].

3.1. Ventajas de la tecnología del eDNA frente a métodos tradicionales en la monitorización de la biodiversidad

Esta técnica tiene múltiples ventajas con respecto a los métodos que se han venido usando tradicionalmente, como por ejemplo:

a. Normalización: la obtención de una muestra ambiental puede llevarse a cabo de manera muy estandarizada en todas las localizaciones de un determinado tipo de hábitat.

b. No invasividad: el ADNn es un método verdaderamente no invasivo que no inflige daño a las especies o hábitats en estudio.

c. Sensibilidad: en situaciones donde las especies de importancia para la conservación tienen estilos de vida crípticos o requieren el estudio de etapas del ciclo vital del organismo como juveniles que son difíciles de identificar a partir de especies estrechamente relacionadas, incluso una alta experiencia taxonómica a menudo es ineficiente.

d. Rentabilidad: varios estudios informan un tiempo de trabajo más corto y un costo más bajo usando eDNA en comparación con las técnicas de monitoreo tradicionales. Dado que el precio de la secuenciación por par de bases sigue disminuyendo exponencialmente, el método del eDNA será en muchos casos superior a algunos métodos tradicionales, especialmente cuando se utiliza un enfoque de codificación en el código de codificación como el metabarcoding.

e. Independencia de las condiciones climáticas: para varias especies (por ejemplo, anfibios), los sondeos tradicionales son difíciles fuera de estaciones particulares o ciertas condiciones climáticas en las que la actividad de los adultos está llegando a su punto máximo [4].

3.2. Diseño de un programa de monitorización genética

Para llevar a cabo un programa de monitorización por eDNA de una determinada especie es necesario seguir una serie de pasos:

i. Identificar los objetivos: los programas de monitorización a largo plazo pueden comenzar con objetivos bastante generales que probablemente evolucionen con el tiempo. Tener objetivos más enfocados que deberían ser lo más específicos posible [18].

ii. Evaluar los potenciales métodos analíticos y de muestreo: ¿Puede el método proporcionar el tipo correcto de información? En general, los proyectos a largo plazo deberían comenzar con un diseño de muestreo relativamente simple para proporcionar flexibilidad para futuros cambios.

iii. Incluir un diseño experimental: si esto no es factible, los cambios en los parámetros clave de la población aún se pueden monitorizar, pero será más difícil establecer relaciones de causa y efecto.

iv. Monitorización adaptativa: el programa debe permitir la máxima flexibilidad para responder a la nueva información y los factores imprevistos, incluidos los cambios en

el sistema natural (por ejemplo, inundaciones, sequías o regímenes climáticos cíclicos); cambios antropogénicos (modificaciones incontroladas en el sistema); y nuevos métodos analíticos.

4. APLICACIONES DEL eDNA Y FUTURAS METAS

4.1. Importancia de un censo de eDNA

La distribución de especies y la estimación de la biomasa son factores importantes para la conservación de poblaciones. La distribución de especies puede determinarse mediante datos de ausencia / presencia, y muchos grupos se ha puesto de manifiesto el uso del eDNA para tal aplicación. La información que proporcionan las estimaciones de biomasa juega un papel importante en la conservación de especies raras y en peligro de extinción y en el manejo del tamaño de la población. La gestión eficiente de especies raras, incluidas especies nativas en peligro de extinción y especies no autóctonas recientemente introducidas, requiere la detección de poblaciones a muy baja densidad [5].

Desde la implementación de la tecnología del eDNA, la investigación ha abordado cuatro temas principales: la detección de especies en peligro de extinción, el rastreo de especies invasoras, la transmisión de patógenos, y el perfeccionamiento de los métodos de campo y de laboratorio.

4.2. Medición de la biodiversidad en ambientes acuáticos

Desde que Ficetola et al. (2008) [5] demostró por primera vez que la detección de vertebrados usando ADN ambiental en muestras de agua era posible, el interés en usar esta herramienta para la conservación biológica de peces, anfibios e invertebrados acuáticos ha crecido rápidamente. La monitorización de especies amenazadas a través del ADN ambiental puede ser una forma rápida, rentable y estandarizada de obtener datos básicos sobre distribución y abundancia, lo que permite un despliegue eficiente de recursos de conservación limitados y experiencia taxonómica.

Aunque el conocimiento sobre la biodiversidad es incompleto o incluso no descrito para numerosos taxones y regiones geográficas [20], existe un acuerdo político internacional para detener la pérdida actual de biodiversidad. La evaluación de la distribución de especies es una primera fase crítica de estudios de biodiversidad y es necesaria para muchas disciplinas como la biogeografía, la biología de la conservación y la ecología. Sin embargo, varias especies son difíciles de detectar, especialmente durante períodos de tiempo particulares o etapas de desarrollo, lo que potencialmente sesga los resultados del estudio.

Por ejemplo, la presencia de marsopas se ha visto afectada por la presencia del parque eólico marino holandés Egmond aan Zee [21]. Los resultados muestran un fuerte patrón estacional, con más actividad registrada durante los meses de invierno. Los motivos de esta aparente preferencia por el parque eólico no son claros. Se discuten dos causas posibles: una mayor disponibilidad de alimentos dentro del parque eólico (efecto arrecife) y / o la ausencia de buques en una parte del Mar del Norte (efecto refugio) que,

de otro modo, estaría muy traficada. Existe particular preocupación por una especie clave, la marsopa del puerto (*Phocoena phocoena*). La tasa de detección genética del delfín de los sitios de campo naturales en el oeste del Báltico fue validada mediante la comparación con las detecciones de los clics de ecolocalización de la marsopa del puerto detectados por los C-POD [12] [21].

Una aplicación especialmente poderosa de los métodos de eDNA es estimar la abundancia de la población a partir de la concentración de eDNA en muestras de agua; la relación entre la biomasa de los individuos y la concentración de eDNA se ha demostrado tanto en los sistemas lénticos [22]. como en los sistemas lótico [2]. Thomsen et al. [23] demostraron que es posible detectar una rica fauna de peces marinos mediante la metabarcodificación del eDNA a partir de muestras de agua de mar, y que dicho enfoque puede cubrir la diversidad de los peces mejor o igual que cualquiera de los 9 métodos convencionalmente utilizados en los sondeos de peces marinos.

La conservación y el manejo efectivos de muchos cetáceos se han visto obstaculizados por métodos insuficientes para adquirir datos sobre ecología alimentaria, parámetros reproductivos, salud individual y de población e impactos fisiológicos de los factores ambientales y antropogénicos (Ej. Biotoxinas marinas, contaminantes, cambio climático global). Esto ha sido particularmente problemático en el caso de las grandes ballenas, que son evasivas y extremadamente difíciles de capturar vivas para tomar muestras de sangre o tejidos [13].

El uso de eDNA en combinación con NGS para detectar múltiples especies simultáneamente es una herramienta poderosa para monitorizar la diversidad de especies en grandes masas de agua y permitirá estimaciones más precisas de la diversidad de especies en lugar de estudio. El NGS es un área de creciente interés abrirá nuevas vías de monitorización del ecosistema al permitir la cuantificación de la riqueza en especies de ambientes acuáticos [18].

Cada vez son más los datos que evidencian una mejor detección de especies y menor esfuerzo de muestreo con la técnica del eDNA en comparación con electrofishing, el esnórquel y otros métodos de campo tradicionales. Por lo tanto, la detección de especies utilizando eDNA puede mejorar las evaluaciones de la biodiversidad y proporcionar información sobre el estado, la distribución y los requisitos de hábitat para especies menos conocidas.

4.3. Control de especies invasivas

Las especies invasoras (Alien Invasive Species, AIS) son una de las principales causas de pérdida de biodiversidad y homogeneización global [7]. Pueden competir con especies nativas, actuar como depredadores o transmitir enfermedades exóticas. Una vez que se establece una AIS, los costos de control pueden ser extremadamente altos y la erradicación completa no siempre se logra. La detección de especies invasoras es un área donde se investigan nuevos métodos de detección. En Europa por ejemplo, las ranas toro se han introducido en al menos 25 países durante el siglo XX.

La detección de especies exóticas invasoras en las primeras etapas de la introducción o cuando están en baja

densidad es clave para llevar a cabo estrategias de control y erradicación [5]. Las especies invasoras acuáticas han sido reconocidas como factores de estrés significativos para los hábitats marinos y de agua dulce, suponiendo un considerable impacto negativo en el bienestar humano debido a la pérdida de ecosistemas y la imposición de costos asociados con las estrategias de mitigación y control.

Actualmente se utilizan primers específicos que amplifican secuencias cortas de ADN mitocondrial para rastrear la presencia de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) en ambientes controlados y humedales naturales. Se la considera una de las especies invasoras más dañinas del mundo, ya que es responsable del declive de los anfibios nativos por depredación directa, competencia, difusión de enfermedades e interacciones bióticas complejas [6].

4.4. eDNA y muestreo de organismos arcaicos

El eDNA antiguo supone un desafío en su obtención y verificación dado que con frecuencia ha sufrido una degradación significativa. Tales estimaciones se basan en la datación de microfósiles como dientes y huesos. Sin embargo, la posibilidad de encontrar los individuos más jóvenes en una población cada vez más reducida puede ser difícil o imposible, y es poco probable que los científicos se encuentren con el "último" microfósil depositado. Alaska es uno de los lugares donde la mayoría de los huesos de mamut lanudo han sido fechados. La datación de estos huesos ha sugerido previamente la fecha de extinción para el mamut lanudo en la parte continental de Alaska, unos 13,100 años BP (before present, antes del presente) [21].

La tecnología del eDNA también se ha utilizado para analizar numerosas muestras vegetales y esclarecer la evolución de las plantas. Se analizaron más de 200 muestras de permafrost de 21 sitios en el Ártico que abarcan los últimos 50,000 años para determinar el eDNA del cloroplasto de la planta. Contrariamente a muchos estudios de polen, los resultados revelan que las etapas más frías y más secas durante la última era de hielo (Last Glacial Maximum, LGM) alrededor de 20 mil años supusieron un cuello de botella importante en la diversidad vegetal y que los períodos más cálidos antes de este cuello de botella eran más ricos y diversos en la composición vegetal que en el período Holoceno posterior a la LGM, donde muchos taxones nuevos se hicieron dominantes [7].

Los rastros invisibles de especies pasadas aún se dejan ver para que los científicos los analicen. es probable que el eDNA esté mucho más presente en el medio ambiente que los microfósiles que aún no se destruyeron hasta resultar irreconocibles debido a milenios de clima y degradación mecánica. El eDNA está pues mas presente simplemente debido a la gran cantidad de células en un organismo o sus restos en el medio ambiente a través del tiempo.

4.5. eDNA como herramienta biosanitaria

Uno de los primeros estudios que recuperaron el eDNA de macroorganismos del agua dulce, estuvo centrado en el ADN de humanos, vacas, cerdos y ovejas, como método con el objetivo detectar las fuentes de aguas superficiales contaminadas fecalmente. De manera similar, la monitorización genética proporciona nuevos conocimientos sobre

las epidemias del virus del Nilo Occidental (VNO) en humanos [24].

4.6. Futuras direcciones

Un aspecto extremadamente prometedor de los métodos de sondeo con ADN es la capacidad de utilizar los esfuerzos de personas que no están capacitadas taxonómicamente pero que si pueden recolectar muestras generalizadas. Biggs et al. (2015) [25] presentan los resultados de una prueba muy exitosa usando un protocolo de recolección hacía uso de ciudadanos sin conocimiento científico que recolectaban muestras de ADN de un anfibio en peligro de extinción (Fig. 3). Sus cuidadosas instrucciones y los kits de recolección de muestras llevaron a altas tasas de detección, lo que demuestra que hay una gran oportunidad de usar científicos ciudadanos para contribuir a la conservación de especies a través de esfuerzos colectivos de recolección de ADN.

La implementación total o la suplementación de los métodos de eDNA en los programas de encuestas y monitorización llevará aun tiempo, pero los profesionales dedicados de todo el mundo están mejorando rápidamente estos métodos con el fin de estar más cerca de este objetivo. La monitorización ambiental del ADN no puede reemplazar las observaciones de campo realizadas por ecólogos experimentados y especialistas en taxones, que obtienen información más allá de los registros cuantitativos y cualitativos, pero es sin duda una herramienta de lo mas útil para el estudio de ecosistemas al alcance de todos [26].

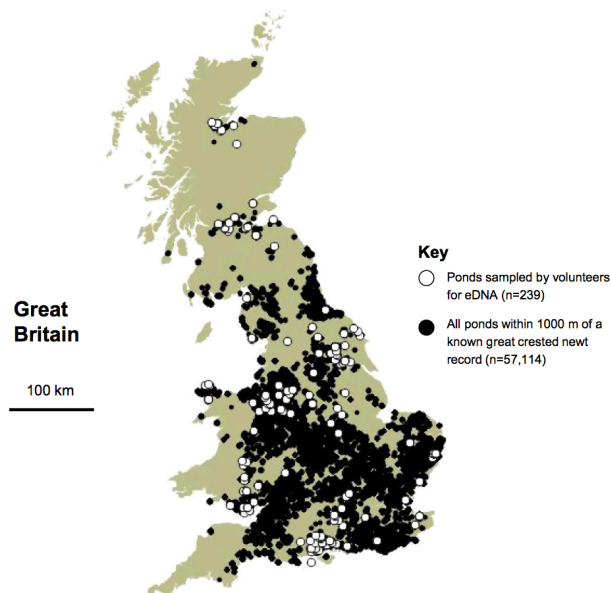


Fig. 3. Ejemplo de monitorización de ecosistemas con participación ciudadana. En el mapa se muestra la ubicación de estanques muestreados por voluntarios en comparación con la distribución de todos los estanques dentro de 1000 m de un registro de tritones con cresta conocido. Los círculos abiertos indican estanques muestreados por voluntarios. Los círculos rellenos indican todos los estanques dentro de 1000 m de un registro de tritones con cresta conocido. [25].

REFERENCES

- [1] Helen C. Rees et al. 2014. The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool

- in ecology. *Journal of Applied Ecology* 2014, 51, 1450–1459. doi: 10.1111/1365-2664.12306
- [2] Pilliod, D.S., Goldberg, C.S., Laramie, M.B., and Waits, L.P., 2013, Application of environmental DNA for inventory and monitoring of aquatic species: U.S. Geological Survey Fact Sheet 2012-3146, 4 p.
- [3] Goldberg CS, Pilliod DS, Arkle RS, Waits LP (2011) Molecular Detection of Vertebrates in Stream Water: A Demonstration Using Rocky Mountain Tailed Frogs and Idaho Giant Salamanders. *PLoS ONE* 6(7): e22746. doi:10.1371/journal.pone.0022746
- [4] Philip Francis Thomsen et al. 2012. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology* (2012) 21, 2565–2573. doi: 10.1111/j.1365-294X.2011.05418.x
- [5] Gentile Francesco Ficetola, Claude Miaud, François Pompano and Pierre Taberlet. 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. *Biol. Lett.* doi:10.1098/rsbl.2008.0118
- [6] Tony Dejean, Alice Valentini, Christian Miquel, Pierre Taberlet, Eva Bellemain, Claude Miaud. 2012. Improved detection of an alien invasive species through environmental DNA barcoding: the example of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus*. *Journal of Applied Ecology* 2012, 49, 953–959 doi: 10.1111/j.1365-2664.2012.02171.x
- [7] Philip Francis Thomsen, Eske Willerslev. 2014. Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation* 183 (2015) 4–18. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.019>
- [8] Christopher L. Jerde, Andrew R. Mahon, W. Lindsay Chadderton, David M. Lodge. 2011. “Sight-unseen” detection of rare aquatic species using environmental DNA. *Conservation Letters* 4; 150–157 . doi: 10.1111/j.1755-263X.2010.00158.x
- [9] Antonio Dell’Anno and Cinzia Corinaldesi. 2004. Degradation and Turnover of Extracellular DNA in Marine Sediments: Ecological and Methodological Considerations. *Applied and Environmental Microbiology*, July 2004, p. 4384–4386. DOI: 10.1128/AEM.70.7.4384–4386.2004
- [10] Roxanne M. Gillett, Timothy R. Frasier, Rosalind M. Rolland, Bradley N. White. 2010 Molecular identification of individual North Atlantic right whales (*Eubalaena glacialis*) using free-floating feces. *Marine Mammal Science*, by the Society for Marine Mammalogy DOI: 10.1111/j.1748-7692.2010.00380.x
- [11] Dejean T, Valentini A, Duparc A, Pellier-Cuit S, Pompanon F, et al. (2011) Persistence of Environmental DNA in Freshwater Ecosystems. *PLoS ONE* 6(8): e23398. doi:10.1371/journal.pone.0023398
- [12] Meike Scheidat, Jakob Tougaard, Sophie Brasseur, Jacob Carstensen, Tamara van Polanen Petel, Jonas Teilmann and Peter Reijnders. 2011. Harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) and wind farms: a case study in the Dutch North Sea. *Environ. Res. Lett.* 6 (2011) 025102 (10pp). doi:10.1088/1748-9326/6/2/025102
- [13] Rosalind M. Rolland et al. 2006. Faecal sampling using detection dogs to study reproduction and health in North Atlantic right whales (*Eubalaena glacialis*). *J. Cetacean Res. Manage.* 8(2):121–125.
- [14] Gross, M. 2012, Barcoding biodiversity. *Current Biology* 22
- [15] Venter, J. C., Remington, K., Heidelberg, J. F., Halpern, A.L., Rusch, D., Eisen J.A. 2004. Environmental Genome Shotgun Sequencing of the Sargasso Sea. *Science*. Vol. 304, Issue 5667, pp. 66-74. DOI: 10.1126/science.1093857
- [16] Darling, J.A., Mahon, A.R. 2011. From molecules to management: Adopting DNA-based methods for monitoring biological invasions in aquatic environments. *Environ. Res.* (2011), doi:10.1016/j.envres.2011.02.001
- [17] Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T.L. 2012. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*. 2012; 13: 134. DOI: 10.1186/1471-2105-13-134
- [18] Cameron R. Turner, Karen L. Uy, Robert C. Everhart, Fish environmental DNA is more concentrated in aquatic sediments than surface water, In *Biological Conservation*, Volume 183, 2015, Pages 93-102, ISSN 0006-3207, <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.017>.
- [19] Kristy Deiner, Jean-Claude Walser, Elvira Mächler, Florian Altermatt, Choice of capture and extraction methods affect detection of freshwater biodiversity from environmental DNA, In *Biological Conservation*, Volume 183, 2015, Pages 53-63, ISSN 0006-3207, <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.018>.
- [20] Vié J., Hilton-Taylor, C., Stuart, S. N. 2009. *Wildlife in a Changing World: An Analysis of the 2008 IUCN Red List of Threatened Species*. ISBN: 2831710634, 9782831710631
- [21] Foote AD, Thomsen PF, Sveegaard S, Wahlberg M, Kielgast J, et al. (2012) Investigating the Potential Use of Environmental DNA (eDNA) for Genetic Monitoring of Marine Mammals. *PLOS ONE* 7(8): e41781. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041781>
- [22] Takahara T, Minamoto T, Yamanaka H, Doi H, Kawabata Z (2012) Estimation of Fish Biomass Using Environmental DNA. *PLOS ONE* 7(4): e35868. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035868>
- [23] Philip Francis Thomsen, Eske Willerslev, Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity, In *Biological Conservation*, Volume 183, 2015, Pages 4-18, ISSN 0006-3207, <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.019>.
- [24] Schneider J, Valentini A, Dejean T, Montarsi F, Taberlet P, et al. (2016) Detection of Invasive Mosquito Vectors Using Environmental DNA (eDNA) from Water Samples. *PLOS ONE* 11(9): e0162493. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162493>
- [25] Jeremy Biggs et al. 2014. Using eDNA to develop a national citizen science-based monitoring programme for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Biological Conservation*. *Biological Conservation* 183 (2015) 19–28. ISSN 0006-3207, <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.029>
- [26] Caren S. Goldberg, Katherine M. Strickler, David S. Pilliod. 2015. Moving environmental DNA methods from concept to practice for monitoring aquatic macroorganisms. *Biological Conservation* 183 (2015) 1–3. ISSN 0006-3207, <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.040>.



Fernando M. Delgado Chaves es estudiante de 4º Curso del Grado en Biotecnología de la Universidad Pablo de Olavide. Durante el curso 2016-2017 realizó su estancia Erasmus en la Ruhr-Universität Bochum (en Bochum, Renania del Norte, Alemania) donde fue alumno interno en el área de Neuroecología y Genética Funcional. Actualmente es alumno interno en el área de Bioinformática de la Universidad Pablo de Olavide donde se encuentra colaborando en proyectos sobre la creación e interpretación de redes de regulación genética.

Base de datos de proteínas: Catalasa

Carmen Serrano Tasset

Resumen—La catalasa es una enzima cuya función es destruir el peróxido de hidrógeno dando lugar a oxígeno molecular y agua. Es un tetrámero que también promueve el crecimiento celular. La herramienta de Internet ha sido esencial en la búsqueda de la información sobre esta biomolécula. Presenta una gran homología con otras proteínas de diferentes organismos, lo que deja entrever su gran importancia. Tiene una estructura secundaria sencilla con diferentes motivos que al plegarse dan lugar a la disposición tridimensional que la hace funcional. Está presente en una gran cantidad de procesos biológicos por lo que su falta provoca enfermedades en el organismo. En la actualidad tiene un uso industrial y es muy significativa en la industria alimentaria gracias a sus capacidades antioxidantes.

Palabras Claves—Catalasa, Crecimiento celular, Enzima, Metabolismo, Peróxido de hidrógeno.

1. INTRODUCCIÓN

La catalasa, también llamada hidroperoxidasa es una enzima, presente en gran cantidad de seres vivos, que contiene un grupo hemo. Su principal función es descomponer el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua para proteger a la célula de los efectos tóxicos del peróxido de hidrógeno, por ello está presente en todas las células aeróbicas. Además, su capacidad antioxidante la lleva a estar presente en numerosos procesos fisiológicos. Se compone de cuatro subunidades idénticas, a cada una de las cuales se une un grupo hemo B.

La catalasa promueve el crecimiento de células, incluyendo células T, células B, células de leucemia mieloide, células de melanoma, células de mastocitoma y fibroblastos.

A lo largo del presente trabajo se discutirá sobre la enzima en cuestión, y se hará un recorrido desde sus homólogos hasta sus funciones pasando por aspectos tan importantes como las diferentes estructuras espaciales que permiten su funcionalidad.

2. MÉTODOS Y MATERIALES

A la hora de realizar este trabajo, la principal herramienta utilizada ha sido Internet. En la red están presentes numerosas bases de datos de proteínas cada una especializada en un tipo de información diferente (GO contiene información sobre las funciones de la proteína en cuestión, Agadir es un sistema de predicción de estructuras helicoidales α y β , etc.). Sin embargo, es relativamente sencillo pasar de un tipo de información en concreto a otro situado en un aspecto diferente pues las bases de datos están relacionadas entre sí. De esta forma, por ejemplo, el portal ExPASy permite el acceso desde su web a páginas como Uniprot, HAMAR, STRING, PROSITE, etc. Debido a esta globalización de la información, encontramos disponibles datos almacenados en portales de todos los sitios del mundo.

También hay que destacar la existencia de programas informáticos que están relacionados la mayoría de las veces con el diseño gráfico de las estructuras secundarias,

terciarias y cuaternarias de las proteínas, por ejemplo Rasmol, Jmol o Pymol.

Para terminar, destacar que las bases de datos que más se han utilizado para recabar información para el trabajo han sido Uniprot, Pfam, ExPASy y PDB.

3. RESULTADOS

3.1. Secuencia nucleotídica

Esta proteína está codificada por un gen situado en el cromosoma 11, locus 11p13. Su secuencia nucleotídica es la siguiente. Se presentan solamente los exones, es decir, las partes del gen que presentan información codificante para la catalasa:

```
5'-ACTCGGGCAACAGGCAGATTTGCCTGCTGA-
GGGTGGAGACCCACGAGCCGAGGCCTCCTGCA-
GTGTTCTGCACAGCAAACCGCACGCTATGGCTGA-
CAGCCGGGATCCCGCCAGCGACCAGATGCAGC-
ACTGGAAGGAGCAGCGGGCCGCGCAGAAAGCT-
GATGTCCTGACCACTGGAGCTGGTAACCCAGTAG-
GAGACAAACTTAATGTTATTACAGTAGGGCCCCG-
TGGGCCCTTCTTGTTTCAGGATGTGGTTTTCACTG-
ATGAAATGGCTCATTTTGACCGAGAGAGAATTC-
CTGAGAGAGTTGTGCATGCTAAAGGAGCAGGGG-
CCTTTGGCTACTTTGAGGTCACACATGACATTAC-
CAAATACTCCAAGGCAAAGGTATTTGAGCATATT-
GGAAAGAAGACTCCCATCGCAGTTCGGTTCTC-
CACTGTTGCTGGAGAATCGGGTTCAGCTGACACA-
GTTCCGGGACCCTCGTGGGTTTGCAGTGAATTTTA-
CACAGAAGATGGTAACCTGGGATCTCGTTGAAAT-
AACACCCCCATTTTCTTCATCAGGGATCCCATT-
GTTTCCATCTTTTATCCACAGCCAAAAGAGAAATC-
CTCAGACACATCTGAAGGATCCGGACATGGTCT-
GGGACTTCTGGAGCCTACGTCCTGAGTCTCTGCAT-
CAGGTTTCTTTCTTGTTTCAGTGATCGGGGGATT-
CAGATGGACATCGCCACATGAATGGATATGGAT-
CACATACTTTCAAGCTGGTTAATGCAAATGGG-
GAGGCAGTTTATTGCAAATTCATTATAAGACTG-
ACCAGGGCATCAAAAACCTTTCTGTTGAAGATG-
```

CGGCGAGACTTTCCAGGAAGATCCTGACTATG-
GCATCCGGGATCTTTTTAACGCCATTGCCACAG-
GAAAGTACCCCTCCTGGACTTTTTACATCCAGGT-
CATGACATTTAATCAGGCAGAACTTTTCCATT-
TAATCCATTTCGATCTCACCAAGGTTTGGCCTCA-
CAAGGACTACCCTCTCATCCCAGTTGGTAAA-
CTGGTCTTAAACCGGAATCCAGTTAATTACTTT-
GCTGAGGTTGAACAGATAGCCTTCGACCCAA-
GCAACATGCCACCTGGCATTGAGGCCAGTCTGA-
CAAAATGCTTCAGGGCCGCCTTTTTGCCTATCC-
TGACACTCACCGCCATCGCCTGGGACCCAAT-
TATCTTCATATACCTGTGAACTGTCCCTACCGTG-
CTCGAGTGGCCAACTACCAGCGTGACGGCCC-
GATGTGCATGCAGGACAATCAGGGTGGTGCTC-
CAAATACTACCCCAACAGCTTTGGTGCTCCG-
GAACAACAGCCTTCTGCCCTGGAGCACAGCATC-
CAATATTCTGGAGAAGTGCGGAGATTCAACA-
CTGCCAATGATGATAACGTTACTCAGGTGCG-
GGCATTCTATGTGAACGTGCTGAATGAGGAACA-
GAGGAAACGTCTGTGTGAGAACATTGCCGGCCAC-
CTGAAGGATGCACAAATTTTCATCCAGAAGAA-
AGCGGTCAAGAACTTCACTGAGGTCCACCCTGAC-
TACGGGAGCCACATCCAGGCTCTTCTGGACAA-
GTACAATGCTGAGAAGCCTAAGAATGCGATTCA-
CACCTTTGTGCAGTCCGGATCTCACTTGGCGGCAA-
GGGAGAAGGCAAATCTGTGAGGCCGGGGCCCTG-
CACCTGTGCAGCGAAGCTTAGCGTTCATCCGIGT-
AACCCGCTCATCACTGGATGAAGATTCTCCTG-
TGCTAGATGTGCAAATGCAAGCTAGTGGCTTCAA-
AATAGAGAATCCCACTTTCTATAGCAGATTGIGT-
AACAAATTTAATGCTATTTCCCCAGGGGAAAATG-
AAGGTTAGGATTTAACAGTCATTTAAAAA-
ATTTGTTTTGACGGATGATTGGATTATTCATTTAA-
AATGATTAGAAGGCAAGTTTCTAGCTAGAAATA-
TGATTTTATTTGACAAAATTTGTTGAAATTATGTA-
TGTTTACATATCACCTCATGGCCTATTATATTTAAA-
ATATGGCTATAAATATATAAAAAGAAAAGATAAA-
GATGATCTACTCAGAAATTTTTATTTTTCTAAGG-
TTCTCATAGGAAAAGTACATTTAATACAGCAGTGT-
CATCAGAAGATAACTTGAGCACCGTCATGGCT-
TAATGTTTTATTCTGATAATAATTGATCAAATT-
CATTTTTTCACTGGAGTTACATTAATGTTAATTCA-
GACTGATTTCAACAGATCAATTTGTAATTGCT-
TACATTTTTACAATAAATAATCTGTACGTAAGAACA
[1]

3.2. Secuencia aminoacídica

La estructura primaria es mostrada a continuación. Esta sufre diferentes modificaciones post-traduccionales. La metionina inicial es eliminada una vez que se ha formado completamente la proteína, quedando finalmente una secuencia de 527 aminoácidos con un peso de 59.75 Da. Además, ocurren otras alteraciones entre las que destacan la presencia de fosfoserina en los residuos 9, 417, 422, 515, 517 y N-succinil lisina en los residuos 221, 233, 306, 480 y 499. El término amino es obstruido de forma post-traducciona. Asimismo, hay que sumar un proceso de acetilación, es decir, la adición de al menos un grupo aceto en el extremo N-terminal normalmente.

MADSRDPASDQMQRHWKEQRAAQKADVLTT-
GAGNPVGDKLNVTIVGPRGPLLVQDVVFTDE-
MAHFDREIRIPERVVHAKGAGAFGYFEVTHDITKYS-
KAKVFEHIGKKTPIAVRFSTVAGESGSADTVRDRPG-
FAVKFYTEDGNWDLVGNNTPIFFIRDPIPFPS-
FIHSQKRNPQTHLKDPMVWDFWLSRPESLHQVS-
FLFSDRGIPDGHHRHMNGYGSHTFKLVNAN-
GEAVYCKFHYKTDQGIKNSVEDAARLSQEDP-
DYGIRDLFNAIATGKYPSTWTFYIQVMFTFNQAE-
TFPFNPFDLTKVWPHKDYPLIPVGLVLNLRNPVNYFA
EVEQIAFDPSNMPPGIEASPDKMLQGRFLFAYPDT-
HRHRLGPNYLHIPVNCYPYRVARVANYQRDGPMS-
MQDNQGGAPNYYPNSFGAPEQQPSALEHSIQYSGE-
VRRFNTANDDNVTQVRAFVNVNLNEEQKRRLCE-
NIAGHLKDAQIFIQKKA VKNFTEVHPDYGSHI-
QALLDKYNAEKPKNAIHTFVQSGSHLAAREKANL

Existen diferentes secuencias conflicto a lo largo de diversos residuos de la proteína como son el 54, 100, 239, 274, 301, 366, 449, 514 y 520. [2]

3.3. Proteínas homólogas y ortólogos

Las proteínas homólogas son aquellas que poseen una secuencia similar debido a un origen evolutivo común.

La catalasa presenta proteínas homólogas en otras especies tales como el chimpancé, el mono Rhesus, el perro, la vaca, el ratón, la rata, el pollo, el pez cebra, la mosca de la fruta, el mosquito, c. elegans, s. cerevisiae, k. lactis, E.gossypii, S.pombe, N.crassa, A.thaliana, el arroz y la rana.

Las secuencias o genes ortólogos son aquellas secuencias homólogas que se han separado por un evento de especiación. Es decir, cuando una especie diverge en dos especies separadas, las copias divergentes de un mismo gen en las especies resultantes se dice que son ortólogos. La catalasa presenta más de 150 ortólogos en la naturaleza.[3]

3.4. Interacciones

Las interacciones de la catalasa son muy variadas y extensas. Para comenzar, debemos decir que es posible la unión de diferentes cofactores a la enzima. Entre estos cofactores encontramos los grupos hemo, moléculas de Mn^{2+} , moléculas de $NADP^+$ e hierro.[4]

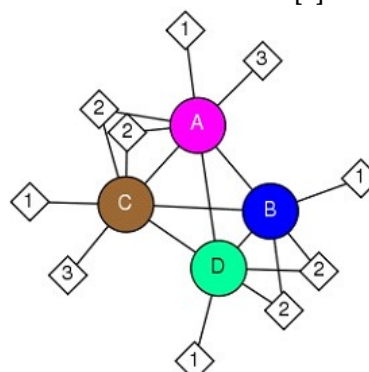


Fig 1. Interacciones de la catalasa

Además, cabe señalar que una proteína que contiene Mn^{3+} en el estado de reposo, también pertenece a la misma familia que la catalasa, llamándose pseudocatalasa. En la imagen superior se representan las interacciones entre los cuatro péptidos que forman la catalasa y los iones acetato ($n^{\circ}1$), los grupos hemo ($n^{\circ}2$) y las moléculas de NADP⁺ ($n^{\circ}3$).

En cuanto a interacciones con otras moléculas, se ha demostrado que la catalasa interactúa con los genes ABL, en específico con el gen ABL2, que codifica para una proteína tirosina-quinasa. Interacciona también con diferentes proteínas del organismo como son XDH, GSR, SOD1, SOD2, SOD3, AKT1, FOXO3, HAO1, PEX5, HAO2 [5].

3.5. Isoenzimas

Las isoenzimas son enzimas que difieren en la secuencia aminoacídica pero que catalizan las mismas reacciones químicas. Como isoenzima de la catalasa encontramos la proteína de unión al ácido salicílico (SABP).

Las enzimas de algunos organismos, tales como *Penicillium simplicissimum*, también pueden actuar como una peroxidasa para los que varias sustancias orgánicas, especialmente etanol, pueden actuar como un donante de hidrógeno.[6]

3.6. Funciones

La catalasa es una enzima oxidoreductasa. Protege a la célula de los efectos tóxicos del peróxido de hidrógeno al descomponerlo en oxígeno y agua. El peróxido de hidrógeno es un residuo del metabolismo celular. Tiene una función protectora contra microorganismos pero debido a su alta toxicidad debe ser transformado en compuestos menos agresivos. La actividad catalítica de la catalasa es: $2 H_2O_2 = O_2 + 2 H_2O$. Además, promueve el crecimiento de células T, células B, células de leucemia mieloide, células de melanoma, células de mastocitoma y fibroblastos.[7]

Aunque esa sea su función primordial también participa en otros procesos biológicos de gran interés e importancia:

- Desarrollo de la yema uretral. Está presente en el proceso específico cuyo resultado es la progresión de la yema uretral desde su formación hasta la estructura madura
- Respuesta al estrés hipóxico
- Respuesta a la tensión de oxígeno baja. La hipoxia se define como una disminución de los niveles de O_2 por debajo de los niveles normales tanto a nivel celular como de organismo.
- Catálisis de la reacción de la aminoacilasa
- Participa en el proceso metabólico de los triglicéridos.
- Respuesta celular frente a estímulos de factores de crecimiento.
- Proceso metabólico de la hemoglobina
- Regulación negativa de la apoptosis

- Regulación positiva de la división celular
- Tetramerización de la proteína
- Proceso catabólico del nucleótido purina
- Respuesta a la vitamina E
- Protección frente a los rayos UV
- Envejecimiento. Las propiedades antioxidantes de la catalasa hacen que, al unirse a otras enzimas como la glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa, sean beneficiosas para la salud y participen en el proceso anti-envejecimiento
- Proceso metabólico del colesterol
- Diferenciación de los osteoblastos
- Respuesta ante especies reactivas de oxígeno
- Proceso metabólico de pequeñas moléculas [8]

La catalasa está presente en diferentes estructuras biológicas en el interior celular. La encontramos en constituyentes como el citosol, el Aparato de Golgi, los lisosomas, el espacio intermembrana mitocondrial, la membrana peroxisomal, la membrana plasmática, el Retículo Endoplasmático y la adhesión focal (macromoléculas a través de las cuales las señales de regulación de fuerza mecánica se transmiten entre la matriz extracelular y la célula que interactúa). Sin embargo, el lugar donde son más abundantes es en el peroxisoma.[9]

3.7. Estructura secundaria

La catalasa pertenece a la superfamilia hemo-dependiente catalasa. Su estructura secundaria se caracteriza por la presencia de tres tipos de motivos diferentes: α hélice, giros y hojas β .

α hélice: residuos 11-18, 55-64, 98-100, 158-160, 161-168, 179-188, 190-192, 193-199, 202-204, 247-256, 260-270, 286-291, 325-328, 349-365, 370-372, 374-376, 416-418, 441-449, 453-467, 472-485, 487-500.

Giros: residuos 7-10, 19-21, 92-94, 172-174, 305-307, 329-331, 397-400.

Hojas β : residuos 30-32, 38-40, 42-45, 73-75, 77-87, 106-114, 116-118, 124-128, 131-138, 141-152, 205-209, 220-223, 229-238, 276-284, 311-320, 343-345, 404-406, 427-431.

El núcleo de la catalasa se compone de un sitio activo que contiene un grupo hemo enterrado en una estructura de β -barril con dos o tres canales que proporcionan acceso al grupo en cuestión. Una tirosina conservada sirve de unión entre la proteína y el grupo hemo. También encontramos una arginina conservada que participa en la unión al grupo. Además, se ha demostrado que una histidina conservada es importante para el mecanismo catalítico de la enzima.

La catalasa presenta dos sitios activos, es decir, dos zonas en las que se une el sustrato para llevar a cabo la reacción catalizada. Estos centros activos se encuentran en los residuos 75 y 148. Asimismo, encontramos un residuo de

unión al grupo metálico que corresponde al aminoácido en posición 358. [10]



Fig 2. Motivos de la catalasa

3.8. Estructura terciaria y dominios

La estructura terciaria de la proteína es la que se muestra a continuación. Los principales dominios de la catalasa son el dominio de respuesta inmune y el de la familia DJ-1/PfpI. Este dominio de respuesta inmune es anfipático y lleva el octa-péptido-inmune sensible que es reconocido por las células T. El segundo dominio citado también se encuentra en los reguladores transcripcionales como el Q9RJG8. La región N-terminal de la proteína es necesaria para la dimerización de la molécula.



Fig 3. Estructura espacial de la catalasa

En la imagen, se pueden distinguir de diferentes colores los motivos que forman la estructura espacial de la catalasa. Se observan α hélices (en color rojo y verde), hojas β (en tonos azules) y los giros o "loops" que unen los motivos dando lugar a la disposición final. [11]



Fig 4. Estructura del dominio de respuesta inmune [12]

3.9. Estructura cuaternaria

La estructura cuaternaria de la catalasa determina su funcionalidad, ya que la capacidad de catálisis de una reacción depende de la disposición espacial en la que se encuentre la enzima. La separación de las subunidades a menudo conduce a la pérdida de funcionalidad. Esta estructura se da cuando la proteína es oligomérica, es decir, cuando consta de más de una cadena polipeptídica. En cada proteína, el número y naturaleza de las distintas subunidades y la forma de asociarse son totalmente dife-

rentes. Las fuerzas que mantienen unidas los distintos monómeros son, de forma general, las mismas que estabilizan la estructura terciaria. Las más abundantes son las interacciones débiles (hidrofóbicas, polares, electrostáticas o enlaces de hidrógeno), aunque en algunos casos, es posible que la estructura cuaternaria se mantenga mediante puentes disulfuro. El ensamblaje de los monómeros se realiza de forma espontánea, indicando que el oligómero presenta un mínimo de energía libre con respecto a los monómeros. [13]

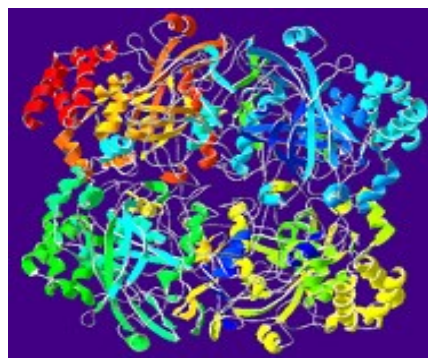


Fig 5. Estructura cuaternaria de la catalasa

3.10. Ploteo de Ramachandrán

En el gráfico o diagrama de Ramachandrán se pueden visualizar todas las combinaciones posibles de ángulos diédricos psi contra phi en los aminoácidos de un polipéptido y que contribuyen a la estructura de la proteína. Este gráfico permite aproximar cuál será la estructura secundaria del péptido, ya que existen combinaciones de ángulos típicas para cada estructura. La conformación de los péptidos se define mediante la asignación de valores para cada par de ángulos para cada aminoácido. [14]

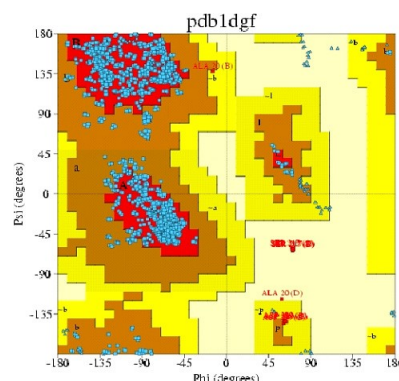


Fig 6. Ploteo de Ramachandrán

3.11. Enfermedades

La acatalasemia es un desorden metabólico caracterizado por una pérdida total o casi total de la actividad de la catalasa en las células rojas o eritrocitos. Está asociada habitualmente con lesiones orales ulcerosas. Esta enfermedad

está causada por mutaciones que afectan al gen que codifica para la catalasa. Es una enfermedad hereditaria. Las manifestaciones clínicas son infecciones de la boca con ulceraciones y gangrena que pueden ser graves llegando a la destrucción gangrenosa de los procesos alveolares con pérdida masiva de dientes afectando también a la parte blanda que los cubre.[15]

4. DISCUSIÓN

Como hemos podido observar, la catalasa es una enzima de la cual se posee información muy variada y de gran interés pues estamos hablando de una de las proteínas más importantes del organismo. Su capacidad de descomponer el peróxido de hidrogeno le confiere una actitud antioxidante. Además, su actividad óptima es a un pH ácido (4-5). Todo esto le da una gran utilidad en la actualidad. La catalasa es utilizada hoy en día en la microbiología, en la industria textil, en la producción de queso y en la investigación. Se usa fundamentalmente como antioxidante en la industria alimentaria, en mantequillas, aceites, mayonesas, etc. Y junto a la glucosa oxidasa, participan en la fabricación de vinos evitando el crecimiento de microorganismos aerobios. En menor medida se emplea en la limpieza de lentes de contacto que se han esterilizado en una solución de peróxido de hidrógeno.

En conclusión, se trata de una enzima de alta importancia biológica presente en la mayoría de organismos con respiración aerobia y que realiza una función indispensable para el correcto funcionamiento del ser vivo en cuestión.

Referencias

- [1] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/847>
- [2] <http://www.uniprot.org/uniprot/P04040>
- [3] http://www.uniprot.org/uniprot/P04040#names_and_taxonomy
- [4] <http://www.uniprot.org/uniprot/P04040>
- [5] http://string-db.org/newstring.cgi/show_network_section.pl
- [6] <http://pfam.xfam.org/family/PF01965>
- [7] <http://amigo.geneontology.org/amigo/search/ontology?q=catalase>
- [8] <http://www.uniprot.org/uniprot/P04040#function>
- [9] http://www.uniprot.org/uniprot/P04040#subcellular_location
- [10] <http://www.uniprot.org/uniprot/P04040#structure>
- [11] <http://pfam.xfam.org/search/sequence>
- [12] <http://pfam.xfam.org/family/PF06628.7>
- [13] <http://www.ebi.ac.uk/pdbsum/1f4j>
- [14] http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=1f4j&template=procheck_summary.html
- [15] http://www.iqb.es/monografia/diseases/e012_01.htm



Carmen Serrano Tasset se encuentra actualmente cursando el 3º año del Grado en Biotecnología impartido por la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

Desarrollo de vacunas contra el Zika

Ana M^a Márquez Caro, Clara Ramírez Anillo, M^a Elena Pacheco Rodríguez.

Resumen— La reciente aparición del virus del Zika supone un peligro para la salud mundial dada su fácil expansión gracias al vector que utiliza. Este flavivirus causa microcefalia, entre otros daños neurológicos, en bebés cuyas madres han sido infectadas durante la gestación. Debido a la gravedad de la situación, numerosos equipos de investigación están desarrollando posibles vacunas para prevenir la infección por el virus.

Palabras Claves— Flavivirus, Microcefalia, Vacuna, Virus, Zika.

Al inicio del año 2015 fue identificado un brote del virus del Zika en el noreste de Brasil, donde también circulaba el virus del dengue. El virus del Zika, al igual que otros flavivirus presentes en la zona, usa como vector el mosquito de la especie *Aedes*, especie endémica de la zona.

En el mes de septiembre, hubo un sorprendente aumento en la cantidad de bebés nacidos con microcefalia en dicha zona, asimismo se encontró ARN del virus del Zika mediante RT-PCR en el líquido amniótico de dos mujeres cuyos fetos padecían microcefalia y en varios tejidos (incluido el cerebral) de un niño con microcefalia que falleció en el período neonatal inmediato.

Ante estos acontecimientos, el Ministerio de Salud de Brasil puso en marcha una investigación para establecer la relación existente entre la microcefalia y la infección por el virus del Zika durante el período gestacional.

Confirmar la infección por el Zika de forma retrospectiva se presentaba como una tarea compleja, ya que las pruebas inmunológicas serológicas pueden incluir reacciones cruzadas con otros flavivirus, como es el caso del virus del dengue.

Debido a estas complicaciones, se decidió usar el sarpullido durante la gestación como un indicador potencial de infección por el virus del Zika, ya que el 74% de las madres de niños con microcefalia incluidas en el estudio habían sufrido erupciones durante el primer o segundo trimestre del embarazo. En el estudio realizado se incluyeron 35 bebés con microcefalia, de estos, el 71% presentaron microcefalia grave y el 49% presentaba al menos una anomalía neurológica. Se confirmó que todas las madres de estos niños habían estado en áreas afectadas por el Zika durante el período gestacional, luego parecía existir una relación obvia entre la infección por el virus del Zika y el inminente aumento de casos de microcefalia.

Si además de esto, tenemos en cuenta que la microcefalia está asociada a daño cerebral causado por infecciones congénitas, la afirmación toma aún más fuerza.

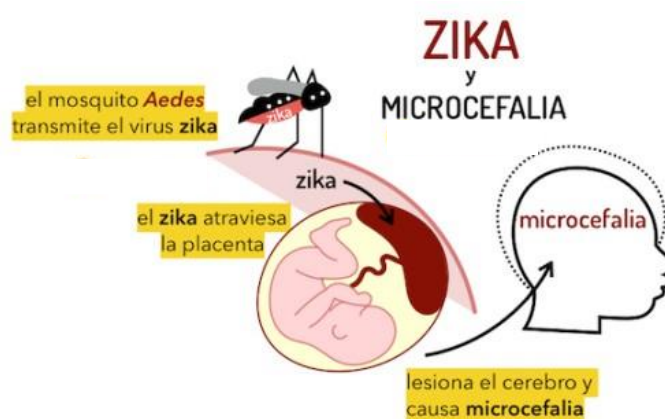


Figura 1. Representación de la transferencia del virus del Zika desde la madre al hijo a través de la placenta, que acaba produciendo microcefalia en el bebé[1].

La vigilancia y evaluación continua de nuevos casos es esencial para estudiar la evolución y dispersión del virus. Hasta el mes de enero del pasado 2016, se confirmó la presencia del virus del Zika en 19 países del continente americano, además de Brasil. Algunos países de la zona aún no han informado de ningún caso, pero la presencia del vector *Aedes aegypti* en estos países los convierte en una potencial zona de expansión del virus[2].

Por la rápida expansión que está teniendo el virus y los efectos neurológicos graves que causa en bebés, hoy en día es una prioridad encontrar un tratamiento para prevenir la infección.

El virus del Zika, como ya hemos dicho, pertenece al grupo de los flavivirus, al igual que el virus del dengue, el virus del Nilo occidental y el virus de la encefalitis japonesa. Este tipo de virus codifica para tres proteínas estructurales (cápside, membrana precursora y envuelta) y siete proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5). Hasta hace poco, no existía suficiente información estructural acerca de estas proteínas como para poder diseñar una vacuna o fármaco efectivo contra el virus, sin embargo, recientemente se ha logrado predecir la estructura de todas las proteínas del virus del Zika utilizando el software SwissModel. Esta herramienta bioinformática usa plantillas experimentales de proteínas

pertenecientes a virus muy parecidos al virus de interés, para predecir la estructura de las proteínas en cuestión. Los modelos estructurales obtenidos, se compararon a su vez, con objetivos de fármacos de otros virus parecidos utilizando el software Visual Molecular Dynamics Multi-seq. Además, se realizó un alineamiento múltiple con todas las poliproteínas del virus utilizando Clustal Omega para identificar mutaciones relacionadas con la patogénesis.

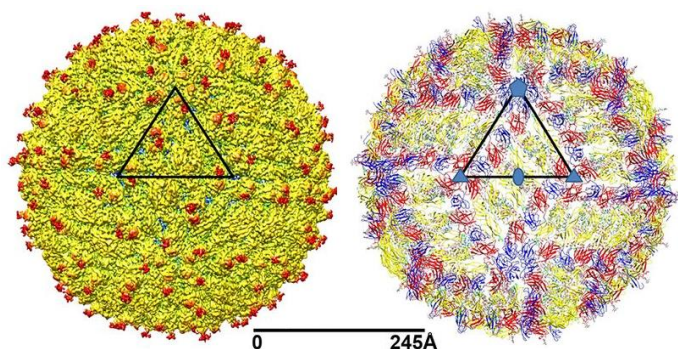


Figura 2. Imagen tridimensional del virus del Zika. A la izquierda, se muestra la glicoproteína de envoltura E en color amarillo con los glicanos sobresaliendo en color rojo. A la derecha, se muestran los tres dominios de la proteína E (rojo (I), amarillo (II) y azul (III)) [3].

Tras realizar estos estudios bioinformáticos, los investigadores averiguaron que, aunque la proteína NS1, la membrana precursora y la envuelta son exclusivas del Zika, las proteínas NS3 y NS5 están presentes también en otros flavivirus como el de la fiebre del dengue o el virus del oeste del Nilo. Por tanto, se podrían utilizar por un lado las proteínas exclusivas del Zika para desarrollar vacunas, o por otro lado, utilizar inhibidores de NS3 y NS5 desarrollados a partir de otros flavivirus para inactivar también el virus del Zika[4].

Ante este panorama prometedor, comenzaron a desarrollarse vacunas contra el Zika y, el pasado año 2017, por fin se anunció que la primera vacuna experimental contra el Zika había logrado estimular la respuesta protectora del sistema inmune y había sido tolerada con éxito por el 90% de los voluntarios. Esta primera vacuna contra el Zika ha sido desarrollada por el Departamento de Salud de los EEUU.

De cara al ferviente éxito, Sarah George, investigadora principal del ensayo, afirmaba, “me complace ver que nuestro trabajo ayuda a avanzar hacia una vacuna contra el virus del Zika, porque la necesitamos para proteger a las personas de esta enfermedad infecciosa emergente que puede causar patologías tan graves como microcefalias y otros defectos cerebrales en los bebés” [5].

Esta primera vacuna con éxito contra el Zika, consiste en una vacuna de ADN GLS-5700 que codifica proteínas de la envuelta y de la premembrana del virus. El mecanismo se basa en introducir este constructo de ADN recombinante en células del organismo que queremos inmunizar. Las proteínas del virus serán sintetizadas por la célula y desencadenarán una respuesta inmune contra ellas, sin provocar efectos patogénicos al no estar presente el virus completo. De este modo, en una futura exposición al pa-

tógeno, el sistema inmunológico del organismo inmunizado sabrá cómo actuar gracias a la evolución que ha sufrido el sistema inmunológico adaptativo y presentará células memoria que agilizarán la respuesta inmunológica contra el virus. Los resultados fueron prometedores, ya que muestran que tres dosis de la vacuna de ADN GLS-5700 sintética fueron capaces de estimular la producción de anticuerpos vinculantes en todos los sujetos y anticuerpos neutralizantes en más de la mitad de las muestras analizadas. Sin embargo, a pesar de que ha sido posible alcanzar buenos niveles de anticuerpos protectores contra el Zika en ratones, esto no se ha traducido hasta ahora en niveles similares de protección en humanos por razones desconocidas. Aunque la vacuna contra el Zika está muy cerca, queda un poco aún para tenerla a nuestra disposición[6].

Por último, en diciembre de 2017, ha sido publicado un estudio en el que se está intentando desarrollar una vacuna contra el Zika basada en partículas similares a virus (VLPs: Viral Like Particles). El constructo desarrollado contiene los genes de una proteína estructural y una proteína de la envuelta del Zika. Esta vacuna, fue sometida a un ensayo con ratones utilizando aluminio como adyuvante, y se obtuvo como resultado que los ratones que recibieron suero inmune (suero obtenido de ratones que habían sido vacunados y habían producido, por tanto, anticuerpos neutralizantes), demostraron una replicación viral muy reducida (medida por los niveles de ARN viral en sangre) tras la infección con el virus del Zika, en comparación con los ratones control (sin suero inmune) que sucumbieron rápidamente a la infección.

Tras conocer todos los estudios realizados recientemente en este sector, podemos afirmar que se presenta un futuro prometedor en el desarrollo de vacunas contra nuevos patógenos. Aunque el desarrollo de nuevas vacunas no es una tarea fácil, gracias todos los estudios que están siendo realizados, se podrá definir en un futuro muy cercano la fórmula óptima para combatir al Zika[7].

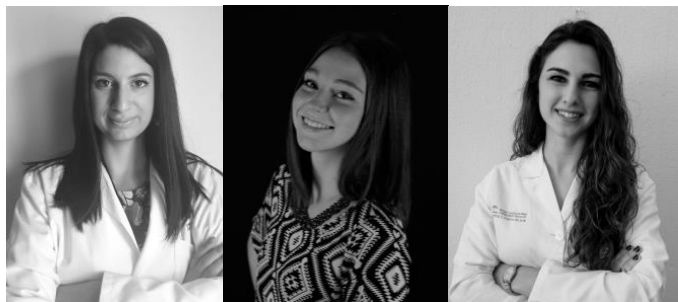
AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a Guillermo López Lluch, profesor de inmunología en el grado de Biotecnología de la Universidad Pablo de Olavide, la oportunidad que les ha brindado de realizar un trabajo de investigación tan interesante como el que se presenta.

REFERENCIAS

- [1] “el virus zika y la microcefalia | neuronas en crecimiento.”
- [2] L. Schuler-Faccini *et al.*, “Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly – Brazil, 2015,” *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, vol. 65, no. 3, pp. 59–62, 2016.
- [3] D. Sirohi *et al.*, “The 3.8 Å resolution cryo-EM structure of Zika virus,” *Science*, vol. 352, no. 6284, pp. 467–70, 2016.
- [4] B. D. Cox, R. A. Stanton, and R. F. Schinazi, “Predicting Zika virus structural biology: Challenges and opportunities for intervention,” *Antivir. Chem. Chemother.*, vol. 24, no. 3–4, pp. 118–126, Aug. 2015.

- [5] “La primera vacuna contra el Zika funciona | Ciencia y tecnología | Cadena SER.” .
- [6] P. Tebas *et al.*, “Safety and Immunogenicity of an Anti-Zika Virus DNA Vaccine – Preliminary Report,” *N. Engl. J. Med.*, p. NEJMoa1708120, Oct. 2017.
- [7] D. Espinosa *et al.*, “Passive Transfer of Immune Sera Induced by a Zika Virus-Like Particle Vaccine Protects AG129 Mice Against Lethal Zika Virus Challenge Passive Transfer of Immune Sera Induced by a Zika Virus-Like Particle Vaccine Protects AG129 Mice Against Lethal Zika Vir,” *EBioMedicine*, no. 17, 2017.



Ana M^ª Márquez Caro, Clara Ramírez Anillo y M^ª Elena Pacheco Rodríguez, estudiantes de cuarto curso del Grado de Biotecnología de la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla).

El hermano salvador

Adolfo Rodríguez Eguren

Resumen— El único remedio de algunas enfermedades monogénicas como la beta-talasemia es el trasplante de médula ósea desde un donante inmunocompatible. Para esto, algunos padres deciden tener un bebé medicamento que pueda donar sus células hematopoyéticas al hermano enfermo. Para seleccionar embriones libres de la mutación y compatibles en sus antígenos leucocitarios se usan técnicas de diagnóstico genético preimplantacional. Este tema abre las puertas a un debate bioético sobre la licitud del proceso.

Palabras Claves— Bebé medicamento- Bioética- HLA- PGD-Trasplante

1. INTRODUCCIÓN

¡Noticia de última hora! ¡Nace en Sevilla una heroína que salva a su hermano de una enfermedad hematológica! Este fue el titular que estalló en todo el país el pasado Octubre de 2017 [1]. En el hospital sevillano Virgen del Rocío nació una niña capaz de salvar a su hermano mayor con un trasplante de médula ósea gracias a su total compatibilidad genética e inmunológica.

Un niño medicamento o, en inglés, *saviour sibling* es un humano concebido por selección en técnicas de reproducción asistida como fuente potencial de donación de órganos o células para un hermano/a que se enfrenta a problemas de salud que pueden amenazar su vida [2].

Existen enfermedades, mayoritariamente monogénicas, como la anemia de Fanconi, beta-talasemia, adrenoleucodistrofia o aplasia medular que sólo pueden ser tratadas con células madre hematopoyéticas, a partir de un trasplante de médula ósea. Sin embargo, este tipo de trasplantes no son tan sencillos como podrían ser un trasplante de hígado o riñón; es necesaria una compatibilidad completa de sus antígenos leucocitarios humanos (*Human Leukocyte Antigen*- HLA en inglés) para que no exista rechazo entre donante-receptor.

2. HLA

La histocompatibilidad podría definirse como la capacidad de reconocer como propios a células, tejidos u órganos procedentes de organismos genéticamente diferentes. Así, un organismo compatible será aquel cuyas células no provoquen respuesta inmune cuando sean introducidas en otro organismo [3].

Los HLA son antígenos que van a estar presentes en la membrana de las células de nuestro organismo en forma de complejo principal de histocompatibilidad clase I y II (MHC-I, MHC-II), cuya función principal será defendernos ante los agentes extraños que entren.

Los genes MHC se encuentran en el cromosoma 6. Se reparten por herencia mendeliana y dan lugar a las diferentes combinaciones de la descendencia. Además, la recombinación génica durante la meiosis induce la aparición de nuevos haplotipos en la población [3].

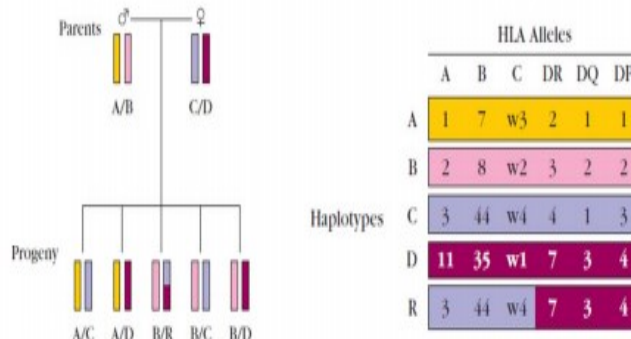


Figura 1. Genética del complejo MHC donde se muestran sus distintas variantes [3].

3. PROCEDIMIENTO

3.1. Obtención de Embriones

Con el fin de obtener la menor diferencia en el *background* genético entre los dos, se selecciona como donante un embrión de mismos parentales que el paciente. Para ello, los padres deben someterse a tratamiento para llevar a cabo la obtención de los cigotos por técnicas de reproducción asistida. Tras aislar las células sexuales (espermatozoide y óvulo) se procedería a la fertilización y crecimiento in vitro por unos días.

Entre los días 3 y 5 tras la fecundación, se haría una biopsia del cuerpo polar, del blastómero o del blastocisto respectivamente a partir de la cual se analizaría la compatibilidad.

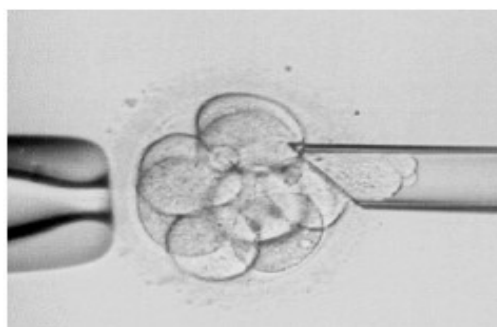


Figura 2. Captura del proceso de biopsia de un blastómero [4].

3.2 PGD HLA

El diagnóstico genético preimplantacional (*Preimplantational Genetic Diagnosis, PGD*) es una tecnología que establece un perfil genético de un embrión antes de implantarse en el útero materno. En este tipo de casos, el propósito del PGD sería seleccionar aquellos embriones libres de la mutación que provocara la enfermedad y que tuvieran el mismo perfil HLA que el enfermo para un eventual trasplante eficaz.

El protocolo más común de PGD se base en la detección de microsatélites (pequeñas repeticiones en tándem de ADN) que se encuentran en la región HLA. En este se estudian tres marcadores de la región I, II, III de HLA y cuatro marcadores cercanos al sitio de mutación [5].

Actualmente se está empezando a utilizar tecnologías como el array de SNPs (*Single Nucleotide Polimorphisms*), NGS (secuenciación de siguiente generación) o WSA (amplificación de todo el genoma, *whole-genome sequence amplification*) [5].

3.3 Implantación del Embrión y Desarrollo del Feto

Una vez seleccionado el embrión candidato, se procede a inyectarlo en el útero materno por vía vaginal a partir de un catéter muy fino.

Si todo sale satisfactoriamente, el feto se desarrollará en el vientre materno, nacerá y crecerá.

3.4 Trasplante de Médula

Los protocolos actuales de trasplante de médula ósea consisten en:

- Acondicionamiento del paciente. El enfermo es tratado con radiación y quimioterapia para eliminar su médula ósea y evitar rechazos.
- Suministro de células madre hematopoyéticas de médula. Tras el trasplante, las células madre comienzan a repoblar la sangre con células nuevas y poco a poco el paciente sanará [6].

4. CUESTIONES BIOÉTIICAS

Como se puede suponer, este tipo de procedimientos son muy controversos y poseen implicaciones éticas relativas a las siguientes cuestiones:

4.1 Reproducción Asistida como Método de Concepción.

Empezando por lo superficial del asunto, está el uso de técnicas de reproducción asistida como método de concepción. Pese a ser un tema aceptado por la población occidental, existen algunos grupos sociales que no estiman moral la separación del acto sexual y el procreador [7].

4.2 PGD y Selección de Embriones

El diagnóstico genético preimplantacional es un método invasivo que puede poner en riesgo al embrión.

Por otra parte, con el fin de conseguir el hermano perfecto se crea un *exceso* de embriones que pueden ser implantados en un

futuro, donados a la ciencia o en el peor de los casos desechados [8].

Por último, ¿se considera lícito deshacerse de embriones enfermos? Esta pregunta podría hacernos pensar en el término eugenesia, que defiende la mejora de los rasgos hereditarios humanos a partir de métodos selectivos [9], es decir, jugar a formar una etnia perfecta seleccionando a los individuos más fuertes, sanos e inteligentes marcando una diferencia social entre los *elegidos* y los *hijos naturales*. Esta diferencia es el argumento principal de la película Gattaca [10].

4.3 Bebé Medicamento

Hay que valorar que el segundo hijo fue concebido para salvar al primero. ¿Hasta qué punto es moral condicionar su infancia sin haberlo elegido? Esta cuestión se plantea bastante bien en la película La decisión de Anne[11], donde Cameron Diaz como protagonista tiene una hija con leucemia y da a luz a otra hija, Anne que debe estar a la disposición de su hermana como donante durante la adolescencia. Ella, harta, se rebela y comienza un proceso legal para evitar su explotación.

5. CONCLUSIONES

El uso de bebés como fuente de sanación para enfermos inmunológicos es una opción instaurada hace varios años. Esta consiste en seleccionar a embrión donante que sea inmunológicamente compatible con el receptor (estudiando su HLA gracias al PGD) y creciéndolo para posteriormente usar donaciones de médula ósea como terapia.

Sin embargo, la ética de este proceso pende de un hilo al usar técnicas de reproducción asistida, seleccionar y eliminar embriones y utilizar a infantes con un fin. A pesar de todo, está legalizado en varios países como España y llevarlo a cabo o no depende de la moralidad de cada familia.

REFERENCIAS

- [1] Nace un nuevo 'bebé medicamento' que permitirá salvar a su hermano de una enfermedad hematológica | ciencia-y-salud/salud | EL MUNDO. Available at: <http://www.elmundo.es/ciencia-y-salud/salud/2017/10/13/59e0a61cca47411b348b45af.html>. (Accessed: 28th December 2017)
- [2] saviour sibling | Definition of saviour sibling in English by Oxford Dictionaries. Available at: https://en.oxforddictionaries.com/definition/saviour_sibling. (Accessed: 28th December 2017)
- [3] López Lluch, G. Tema 3. El antígeno.
- [4] Fernández Sánchez, M. ICSI.
- [5] Tur-Kaspa, I. & Jeelani, R. Clinical guidelines for IVF with PGD for HLA matching. *Reprod. Biomed. Online* 30, 115–119 (2015).
- [6] López Lluch, G. Tema 11. Inmunología del trasplante.
- [7] Catecismo de la Iglesia Católica, Índice general. Available at: http://www.vatican.va/archive/catechism_sp/index_sp.html. (Accessed: 28th December 2017)
- [8] Sparrow, R. & Cram, D. Saviour embryos? Preimplantation genetic diagnosis as a therapeutic technology. *Reprod. Biomed.*

Online 20, 667-674 (2010).

[9] De Araujo, E. & Sommer, L. A Summary History of Eugenic Theories and Practices in the United States.

[10] Gattaca - Wikipedia, la enciclopedia libre. Available at: <https://es.wikipedia.org/wiki/Gattaca>. (Accessed: 28th December 2017)

[11] My Sister's Keeper (2009) - Box Office Mojo.



Adolfo Rodríguez Eguren estudia actualmente cuarto curso de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide. Disfruta de la Beca de Colaboración del Ministerio en el Centro Andaluz de Biología del Desarrollo y compagina su formación con la asociación ESN UPO ejerciendo de Secretario.

La microbiota, forjando el órgano invisible.

Luna García-Parra Gil, Adrián López Catalina

Resumen—La colonización microbiana humana se inicia en el nacimiento y se sigue desarrollando hasta los tres años de edad, momento en el que la microbiota ya queda estabilizada. Durante este mismo período los niños sufren cambios que influyen en su estado de salud y sistema inmune. Cada vez son más las enfermedades asociadas a la disbiosis o desequilibrio de la microbiota temprana. En este artículo se recoge la descripción y función del microbioma intestinal en los primeros años de vida así como los factores determinantes en el desarrollo de cambios en el mismo y algunos de los avances recientes en el entendimiento del papel de la microbiota intestinal temprana en enfermedades como la enfermedad inflamatoria intestinal, obesidad y asma entre otras. Se plasma por tanto también el estudio de la relación microbiota intestinal-sistema inmune para la prevención de enfermedades a edad temprana.

Palabras Claves— alergias, antibióticos, inmunología, neonatos, lactancia, tipo de parto, microbiota, microbioma.

Luna García-Parra Gil, Adrián López Catalina. Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad Pablo de Olavide.

1. INTRODUCCIÓN

Una vez que nacen, los niños sufren una serie de cambios en sus intestinos muy condicionados por la colonización de microorganismos.

El intestino del recién nacido se coloniza en un principio por Enterobacterias y posteriormente al nacimiento las Estrictolias, bacterias anaeróbicas predominan en la comunidad microbiana. Ya durante el primer mes, toman fuerza las bifidobacterias, aunque con la introducción de alimentos sólidos en la dieta a los 4 meses aproximadamente supone un aumento en los niveles de especies clostridiales (Lachnospiraceae, Clostridiaceae y Ruminococcaceae). La familia Ruminococcaceae continúa aumentando en los meses siguientes. Alcanzados los 3 años de edad la microbiota de un niños está compuesta en su mayoría por Bacteroidaceae, Lachnospiraceae y Ruminococcaceae, y se mantendrá más o menos estable hasta la edad adulta. (imagen 1)

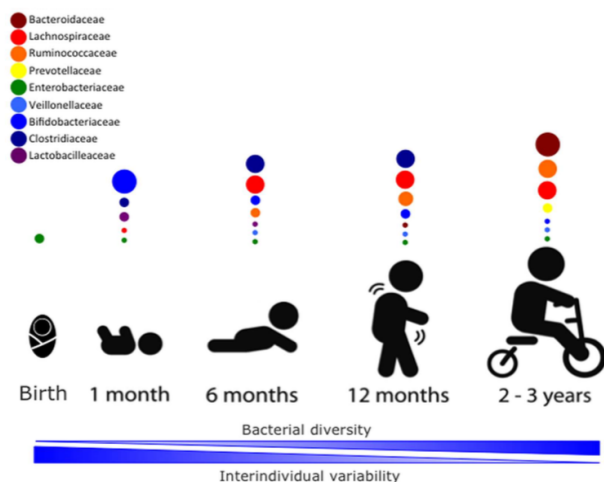


Imagen 1. Etapas de la colonización microbiana del intestino del niño y el infante. Las familias bacterianas más abundantes aparecen representadas en círculos (cuanto mayor es el círculo, mayor es la abundancia relativa del taxón bacteriano representado).

En experimentos libres de gérmenes en modelos animales se ha demostrado que la colonización microbiana induce el desarrollo anatómico del epitelio intestinal y su patrón normal de microvellosidades, aumenta la tasa de renovación de las células epiteliales, y desencadena la maduración del tejido linfoide (inmunitario) asociado al intestino (GALT). A nivel funcional, los ratones libres de gérmenes no desarrollaban tolerancia oral y los tratados con antibióticos eran mucho más susceptibles a los patógenos intestinales [1]. Además, tras el tratamiento con antibióticos, varios modelos animales mostraron un fenotipo exacerbado o mejorado de enfermedades inmunes mediadas, entre las que se incluían asma y diabetes tipo 1 [2].

El comportamiento de los niños durante los 3 primeros años de vida conlleva una alta exposición a los microbios no siendo sorprendente por tanto que la microbiota en niños menores de 3 años sea más influenciada por factores ambientales que la microbiota del adulto. Los cambios en el estilo de vida, que incluyen una mejor desinfección, cesáreas, uso de antibióticos y vacunas, se encuentran entre algunos de los factores que pueden cambiar la microbiota y se están estudiando como posibles impulsores del aumento repentino en enfermedades inmunológicas en el mundo desarrollado. Se la alteración temprana de la microbiota puede favorecer el desarrollo de la enfermedad más adelante en la vida [3].

A continuación se exponen algunas de las novedades más destacadas en los estudios de microbiota durante los tres primeros años de vida, así como algunos factores prenatales, perinatales y postnatales que alteran el microbioma intestinal en la vida temprana. Se muestran también evidencias de que los cambios en la microbiota durante los primeros años de vida afectan el desarrollo de enfermedades intestinales y extraintestinales. [1]

2. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL DESARROLLO DE LA MICROBIOTA INFANTIL.

microbioma durante los primeros años de vida. Entre ellos podemos destacar:

2.1. Exposición prenatal

La construcción de la microbiota se inicia mucho antes del parto. Contrariamente a lo que se pensaba años atrás, el líquido amniótico no es estéril aunque la presencia de bacterias en él pueda estar asociada a un estado de enfermedad. Normalmente las bacterias también son detectables en el líquido amniótico y en las placentas de los bebés sanos, llegándose a encontrar en ambos phyla habituales de la microbiota oral como: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, y Fusobacteria.

Se conoce que antes de que la madre dé a luz, los microbios del líquido amniótico pueden llegar al feto puesto que el meconio tampoco es estéril.

Recientemente un estudio comparativo de la microbiota de meconio de bebés prematuros y de las microbiotas de la cavidad amniótica, vaginal y oral, por separado mostraba que la mayoría de superposiciones entre el meconio se daban a partir de conjuntos de datos amnióticos.

En cuanto a lo taxones bacterianos encontrados en el meconio de recién nacidos sanos se superponen con la microbiota intestinal adulta, habiéndose detectado Bacteriaceas (incluidas *Escherichia coli* y *Shigella spp.*), Enterococos, estreptococos, estafilococos (incluido *Staphylococcus epidermidis*) y bifidobacterias.

Se cree que las bacterias del intestino pasan al torrente sanguíneo para acabar llegando al útero, aun así sigue sin haber evidencia empírica de que esto sea cierto por lo que no se conoce realmente cómo estos microorganismos alcanzan el útero.

2.2. Tipo de parto. Natural vs cesárea

Aproximadamente un 25% de los niños que nacen en países desarrollados lo hacen mediante cesárea. Los patrones de colonización bacteriana temprana difieren en gran manera de la de los niños nacidos por parto vaginal. Se ha demostrado [4] que la primera microbiota está determinada por el tipo de parto, mostrándose que la microbiota intestinal de los recién nacidos es muy similar al tipo de microbiota a la que se enfrentan al nacer.

Mediante estudios de secuenciación de rRNA 16S se ha demostrado la similitud que presenta la microbiota intestinal del infante con la microbiota vaginal o de la piel de su madre dependiendo de su forma de nacimiento.

Los niños que nacen mediante cesárea presentan menos *Bifidobacterium* y especies *Bacteroides* que los niños nacidos mediante parto natural. La microbiota intestinal de infantes nacidos por cesárea es menos diversa a los 2 años que la del resto. Esto puede deberse a una colonización

Son muchos los factores involucrados en el desarrollo del retrasada de los intestinos por *Bacteroidetes* ya que los niños nacidos por cesárea no presentaron colonización por parte de estas bacterias hasta cumplir un año de edad. Estas diferencias no se ven tan claramente en niños prematuros.

Un tiempo de gestación más corto se asocia con una mayor prevalencia de *Clostridium difficile* y de especies de *Staphylococcus*. El tipo de parto tiene poco impacto en el desarrollo de la microbiota de bebés prematuros. También puede ser que los patrones de colonización difieran en estos bebés debido a un mayor uso de antibióticos en ellos.

Estas diferencias llevan al desarrollo de trastornos inmunológicos asociados al tipo de parto. El parto por cesárea está asociado con un mayor riesgo de desarrollo de enfermedad inflamatoria intestinal hasta los 14 años

Con el establecimiento de diferentes microbiomas intestinales entre los bebés nacidos por vía vaginal o por cesárea vienen en desarrollo subsecuente de varios trastornos inmunológicos asociados con el modo de nacimiento. Se comprobó [5] que el parto por cesárea está asociado con un mayor riesgo de desarrollo de enfermedad inflamatoria intestinal entre 0 y 14 años de edad.

La cesárea se asocia a la adiposidad a las 6 semanas de edad, relación que se ve aún más clara en niños nacidos de madres obesas. A los 11 años éstos presentan 1.83 más probabilidades de tener sobrepeso. Los niños nacidos por cesárea tienen más riesgo de desarrollar enfermedades celíacas. La disbiosis intestinal microbiana es la explicación más aceptada para la asociación del tipo de parto con estas enfermedades.

2.3. Lactancia natural vs alimentación artificial

La leche materna satisface los requerimientos nutricionales de los infantes y les otorga protección frente patógenos gracias a la transmisión de anticuerpos maternos (IgA) y otros factores antimicrobianos. La Organización Mundial de la Salud recomienda dar el pecho a los recién nacidos hasta los 6 meses para asegurar todos los beneficios nutricionales e inmunológicos.

Se han comparado los efectos de la leche materna y la leche industrial, probándose que la leche materna contiene su propio consenso microbiano que se transmite al niño junto con oligosacáridos no digeribles que promueven la proliferación de determinadas bacterias intestinales.

La transferencia bacteriana a través de la piel de la madre durante la lactancia es inevitable, pero cada vez son más los estudios que apoyan la hipótesis de la vía enteromamaria, que propone que las bacterias intestinales de la madre alcanzan las glándulas mamarias usando las células dendríticas y los macrófagos

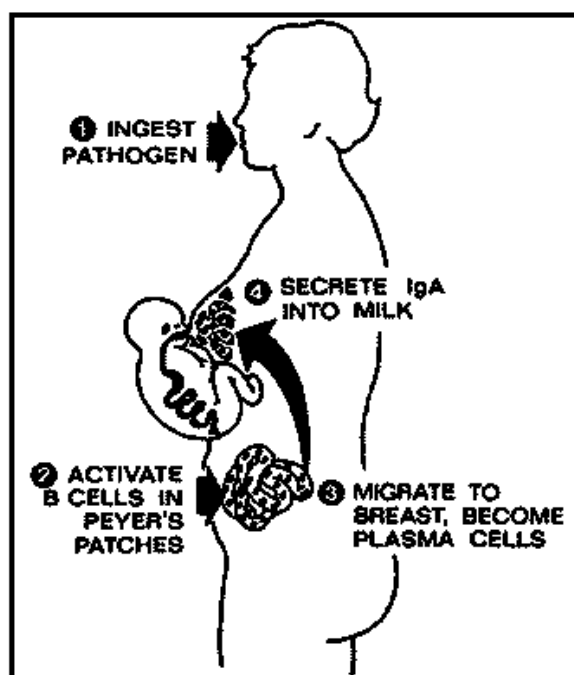


Imagen 2.- Se muestra la vía enteromamaria.

Esta hipótesis se ve reforzada por la identificación de bacterias asociadas a los intestinos que comparten las heces y la leche materna con las heces del neonato. Al comparar infantes alimentados con leche materna con infantes alimentados con leche industrial se ha comprobado que los que tomaban el pecho tendían a tener una población de la microbiota intestinal más uniforme. Bifidobacterias y Lactobacillus tienden a dominar en estos infantes mientras que en los que tienen una alimentación artificial se encuentran más proporción de Bacteroides, Clostridium, Streptococcus, Enterobacteria, y Veillonella spp.

Actualmente se busca enriquecer la leche industrial con oligosacáridos de leche materna (HMOs) ya que están considerados como prebióticos que promueven el crecimiento y la proliferación de comensales beneficiosos para el recién nacido, por lo que se prevendría así una colonización de patógenos en el intestino.

Determinados tipos de poblaciones de bacterias asociadas a intestinos como *Bifidobacterium spp.* tiene agrupaciones de genes dedicadas al metabolismo de HMOs. Se ha probado in vitro en un estudio usando *Bifidobacterium spp.*, *Escherichia coli*, y *Clostridium perfringens* que sólo *Bifidobacterium spp.* fue capaz de metabolizar de forma eficaz los HMOs. Además, el metabolismo de estos sustratos provocó una producción de lactato y ácidos grasos de cadena cortas que incrementan la acidez del entorno, un factor muy importante para la prevención de la colonización por patógenos.[6]

2.4. Antibióticos

Los antibióticos de amplio espectro son prescritos regularmente a niños de países occidentales para intentar protegerlos de enfermedades. Además de crear

resistencias, el uso de antibióticos puede estropear la ecología local de la microbiota intestinal y puede hacer al infante más proclive a contraer determinadas enfermedades.

Aunque la microbiota intestinal es bastante resistente a factores disruptivos como los antibióticos, su ecología puede verse gravemente cuando la exposición a los mismos es demasiado prolongada en el tiempo.

Esta disrupción combinada con el descenso de la diversidad microbiana en el intestino de los infantes puede promover la aparición de patógenos entéricos. Un estudio llevado a cabo en niños de 0 a 13 meses vinculó el inicio de infecciones de *C. difficile* con disrupciones en la microbiota causadas por antibióticos.[7]

El uso de antibiótico en estadios tempranos puede impactar significativamente al crecimiento de otros phyla bacterianos dominante en los intestinos. Los niños expuestos a ampicilina y gentamicina poco después del nacimiento tendían a albergar mayores proporciones de Proteobacteria, Actinobacteria, y Lactobacillus que los niños

La exposición a antibióticos demasiado temprano puede llevar a que el niño sea más susceptible a otras enfermedades en etapas más tardías de su vida. Un tratamiento con vancomicina

Un estudio en humanos asocia el tratamiento con vancomicina con un aumento del ácido biliar y el metabolismo de la glucosa relacionado con el desarrollo de la obesidad [8]. Además, la terapia con antibióticos administrada a un modelo de adiposidad en ratones a temprana edad altera la abundancia relativa de poblaciones bacterianas en el intestino (107). También hay evidencia de que los antibióticos juegan un papel en el desarrollo de la EII en los niños. Shaw et al. descubrieron que el uso de antibióticos durante el primer año de vida era más común en aquellos con diagnóstico de EII [9].

Estos resultados sugieren fuertemente un vínculo entre el uso de antibióticos y el inicio de la enfermedad, pero se necesita investigación para comprender completamente el mecanismo por el cual la disbiosis microbiana inducida por antibióticos influye en el desarrollo inmune de la vida temprana

3. DISBIOSIS DE LA MICROBIOTA EN ENFERMEDADES PEDIÁTRICAS

La alteración de cualquiera de los factores mencionados anteriormente puede desembocar en la disbiosis o desbalance del equilibrio de la microbiota.

3.1. Obesidad

En la obesidad, las investigaciones iniciales relacionaban la composición de la microbiota intestinal con la ganancia de peso, así como la proporción entre Bacteroidetes y Firmicutes con la habilidad de extraer energía de la dieta. Además, se ha probado en gemelos monocigóticos discordantes para obesidad que una transferencia de su microbiota a ratones libres de patógenos es suficiente para

explicar o intuir por qué no presentan los mismos atributos físicos como la altura, el peso y factores no genéticos.

Hay muchos niños han sido expuestos a antibióticos durante la niñez. Se han usado dosis sub-terapéuticas de diferentes clases antibióticos como promotores del crecimiento en los inicios de vida de los niños. Los mecanismos de estas dosis subterapéuticas no se conocían al completo hace unos años pero se ha visto que pueden llegar a alterar el microbioma intestinal, es decir un aumento de genes microbianos clave implicados en el metabolismo de carbohidratos

Los mecanismos que la microbiota usa para señalar un cambio en el metabolismo de su huésped incluyen la señalización a través de TLR5, el péptido glucagón-like (GLP)-1/2 y la mediación sistémica de los niveles de LPS. Por lo tanto, la función inmunológica está vinculada a la patofisiología de la obesidad. Esta enfermedad posee un componente inflamatorio que puede explicar el desarrollo de enfermedades metabólicas, reflejado en el aumento de los niveles de proteínas inflamatorias en el torrente sanguíneo, la secreción aumentada de adipocinas y la activación desregulada de leucocitos en varios tejidos, incluyendo el hígado y el cerebro. [10]

Como se discutió anteriormente, el modo de parto al nacer puede alterar la composición de la intestinal temprana en recién nacidos. Siendo la de los niños nacidos por cesárea más similar a la microbiota de la piel que a la vaginal.

En un estudio con niños obesos brasileños [11] los niños nacidos por cesárea presentaban un riesgo mayor de desarrollar obesidad en la adultez temprana que los nacidos por parto vaginal. De igual manera, los niños alimentados con leche en polvo en lugar de leche materna en los primeros 6 meses de vida presentaban el doble de posibilidades de desarrollar obesidad en un futuro.

Además de la ingesta nutricional, muchos niños habían tanto para crear ácidos grasos de cadena corta como para provocar cambios en el metabolismo hepático de lípidos y en el metabolismo del colesterol, llevando a una mayor adiposidad en modelos de ratones jóvenes. Por lo que podemos asegurar que una exposición a bajos niveles de antibióticos puede inducir leves cambios en el ecosistema microbiano, seleccionando un entorno más apto para los microorganismos que promueven la ganancia de peso. Estudios epidemiológicos conducidos en Estados Unidos demostraron [12] que existe una correlación entre los estados donde hay mayor uso de antibióticos en bebés y los estados donde los índices de obesidad son más altos.

4. CONCLUSIÓN

El estudio y análisis de la microbiota suponen una nueva puerta hacia métodos de diagnóstico y tratamientos innovadores de enfermedades cotidianas. hay claras evidencias de que la composición de la microbiota intestinal que se forja durante los primeros años de vida está muy relacionada no solo con el

desarrollo de enfermedades a temprana edad si no con la propensión de padecer algunas a largo plazo, por tanto la investigación de los perfiles metagenómicos y metabolómicos correspondientes a la vida temprana y de los cambios microbianos asociados a la enfermedad pueden aportar información en la comprensión del rol de la microbiota en el proceso de la enfermedad, así como biomarcadores de la enfermedad antes de que se manifieste clínicamente.

Por su lado si se sigue constatando que el hecho de no nacer por parto natural, cesárea en este caso, nos predispone a desarrollar alergias, y otros tipos de inmunodeficiencias, obesidad y otras enfermedades podríamos conseguir erradicarlas no mediante la vacunación, sino mediante trasplantes directos de microbiota o tratamientos con probióticos o prebióticos como los hmos.

5. REFERENCIAS

- [1] Arrieta, M.-C., Stiemsma, L. T., Amenyogbe, N., Brown, E. M., & Finlay, B. (2014). The Intestinal Microbiome in Early Life: Health and Disease. *Frontiers in Immunology*, 5(September),1-18. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00427>
- [2] Rask C, Evertsson S, Telemo E, Wold AE. A full flora, but not monocolonization by *Escherichia coli* or *Lactobacilli*, supports tolerogenic processing of a fed antigen. *Scand J Immunol* (2005) 61:529-35.doi:10.1111/j.1365-3083.2005.01598.x
- [3] Hara N, Alkanani AK, Ir D, Robertson CE, Wagner BD, Frank DN, et al. Prevention of virus-induced type 1 diabetes with antibiotic therapy. *J Immunol*
- [4] Penders J, Stobberingh EE, Van Den Brandt PA, Thijs C. The role of the intestinal microbiota in the development of atopic disorders. *Allergy*(2007)62:1223-36.doi:10.1111/j.1398-9995.2007.01462
- [5] Lozupone CA, Stombaugh J, Gonzalez A, Ackermann G, Wendel D, Vazquez-Baeza Y, et al. Meta-analyses of studies of the human microbiota. *Genome Res*(2013) 23:1704-14. doi:10.1101/gr.151803.112
- [6] Bager P, Simonsen J, Nielsen NM, Frisch M. Cesarean section and offspring's risk of inflammatory bowel disease: a national cohort study. *Inflamm Bowel Dis* (2012) 18:857-62. doi:10.1002/ibd.21805
- [7] Fernandez L, Langa S, Martin V, Maldonado A, Jimenez E, Martin R, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res* (2013) 69:1-10. doi:10.1016/j.phrs.2012.09.001
- [8] German JB, Freeman SL, Lebrilla CB, Mills DA. Human milk oligosaccharides: evolution, structures and bioselectivity as substrates for intestinal bacteria. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program* (2008) 62:205-18. doi:10.1159/000146322 discussion 218-222,
- [9] Vrieze A, Out C, Fuentes S, Jonker L, Reuling I, Kootte RS, et al. Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity. *J Hepatol* (2014) 60:824-31. doi:10.1016/j.jhep.2013.11.034
- [10] Gibbs BG, Forste R. Socioeconomic status, infant feeding practices and early childhood obesity. *Pediatr Obes* (2014) 9:135-46. doi:10.1111/j.2047-6310.2013.00155.x
- [11] Riley LW, Raphael E, Faerstein E. Obesity in the united states - dysbiosis from exposure to low-dose antibiotics? *Front Public Health* (2013) 1:69. doi:10.3389/fpubh.2013.00069
- [12] Gibbs BG, Forste R. Socioeconomic status, infant feeding

practices and early childhood obesity. *Pediatr Obes* (2014)
9:135–46. doi:10.1111/j.2047-6310.2013.00155.x



Luna García-Parra Gil y Adrián López Catalina

Alumnos de 4º curso del Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide. Artículo realizado para la asignatura de Inmunología.

Relación entre la autofagia y el ejercicio físico

Judit Gutiérrez Navarro

Resumen— Los beneficios que el ejercicio físico aporta a nuestra salud, y las adaptaciones morfológicas y fisiológicas que éste produce en el músculo son bien conocidos, sin embargo, los mecanismos involucrados en las adaptaciones celulares y metabólicas inducidas por el ejercicio son mucho menos conocidos. La autofagia es un proceso conservado a través de la evolución cuya función es reciclar agregados de proteínas y orgánulos para su posterior utilización. Esto lo hace degradando macromoléculas y orgánulos subcelulares a través de la fusión de los autofagosomas con los lisosomas, y así liberar algunos materiales útiles como los aminoácidos para que puedan volver a ser usados y mantener el metabolismo celular. Se ha demostrado que el ejercicio físico es un inductor de la autofagia, aunque tanto las respuestas a este ejercicio como las adaptaciones al mismo son diferentes y variadas. El objetivo de esta revisión es doble: por un lado, aclarar qué es la autofagia y describir sus fases, y por otro, descubrir la relación que tiene la autofagia con el ejercicio físico; la activación de la autofagia con la contracción muscular, las adaptaciones al ejercicio potenciadas por la autofagia y sus beneficios asociados.

Palabras Claves— Adaptación fisiológica, Autofagia, Autofagosomas, Ejercicio, Lisosomas.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, cada vez hay más interés en conocer los efectos beneficiosos del ejercicio físico, ya que la sociedad se torna más sedentaria y envejecida por momentos. Se sabe que el ejercicio regular mejora la salud cardiovascular, el mantenimiento de la masa muscular, el equilibrio de glucosa e incluso el humor [1], [2], [8], [23]. Sin embargo, el ejercicio también daña proteínas, que deben ser recicladas para permitir la síntesis de maquinaria nueva y mejorada, y a esto, es a lo que se conoce como autofagia [8], [12], [14], [16], [20], [23].

La autofagia es un proceso conservado en eucariotas y las primeras rutas de ésta fueron descubiertas en levaduras, con la identificación de 30 genes relativos a la autofagia o genes ATG, que más tarde se identificaron también en mamíferos [3], [5].

Estudios recientes han demostrado que la autofagia tiene un papel fisiológico y fisiopatológico más importante de lo que se pensaba, en situaciones como la adaptación al hambre, la limpieza de proteínas, en enfermedades o en el ejercicio, ya que el reordenamiento citosólico después del mismo requiere de la mediación de este proceso [4], [11], [17], [18], [19], [20].

2. DESARROLLO

2.1. ¿Qué entendemos por autofagia?

La autofagia es un proceso en el que se degradan macromoléculas y orgánulos subcelulares a través de la fusión de autofagosomas y lisosomas para reciclar material útil

como los aminoácidos, y así producir energía y mantener el metabolismo celular [18], [20].

2.2. ¿Cómo ocurre la autofagia?

El objetivo de la autofagia es la formación de un autofagosoma cuyo contenido es degradado y reciclado, y esto se consigue en varias fases que detallaremos a continuación, pero antes de que se lleven a cabo todos estos pasos, hay una responsable de que se active la autofagia, y ésta es la proteína mTOR [9]. El mecanismo de mTOR es el siguiente: mTOR está activo cuando hay nutrientes, y esto inhibe la autofagia, pero en pobres condiciones de nutrientes, mTOR se inactiva, y esto induce la autofagia. Cuando mTOR se inactiva, deja de fosforilar de forma directa a ULK1 y ATG13. La ULK1 desfosforilada se disocia del complejo mTOR y fosforila a ATG13 y RB1CC1, lo que induce a que se produzca la fase de nucleación del autofagosoma [5], [20], (Fig 1).

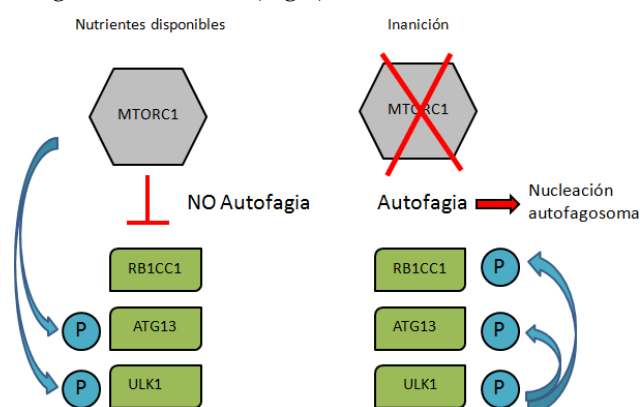


Fig. 1. Complejo ULK.

2.3. Fases de la autofagia

La autofagia se compone de varias fases: iniciación, nucleación, elongación, fusión y degradación. La iniciación consiste en la formación de una doble membrana o fagoforo [20], [22]. A la fase de iniciación le sigue la de nucleación. Esta fase requiere de la formación de un complejo compuesto por fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K), VPS15, AMBRA1, VPS34 y UVRAG y Beclin-1. Dentro de ese complejo, si Beclin-1 está libre, recluta proteínas ATG para la formación del autofagosoma [20].

La siguiente fase es la de elongación, en la que se necesita la unión de ATG5 y ATG12 para formar un complejo que se une a ATG16, y se forma el complejo ATG12-ATG5-ATG16. Este complejo interviene en la conjugación de la fosfatidiletanolamina (PE) con LC3-I para formar LC3-II, que es lo que se va a unir a la membrana del autofagosoma para elongarla [20], (Fig 2).

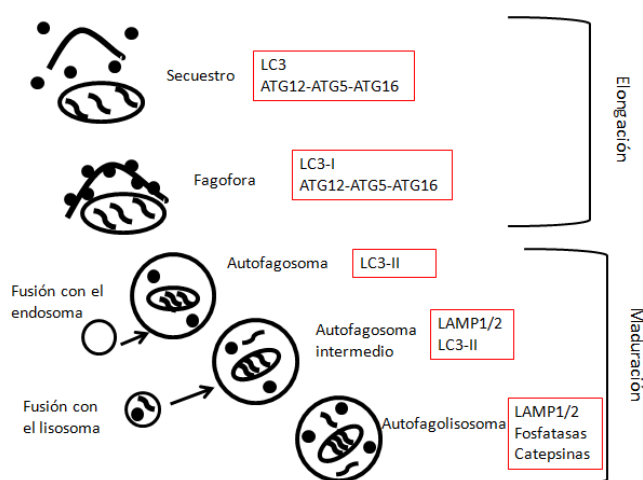


Fig. 2. Fases de elongación y maduración.

Las últimas fases son las de maduración y degradación. Después de la elongación, el autofagosoma formado se fusiona con el lisosoma y se forma un autofagolisosoma intermedio, y de la interacción de este autofagolisosoma intermedio con las proteínas LAMP-1 y LAMP-2, se obtiene un autofagolisosoma maduro. Este autofagolisosoma adquiere la enzima degradativa catepsina y fosfatasa ácida, que servirán para la rotura de proteínas dentro del mismo. También será necesaria la proteína RAB-7 para exportar los aminoácidos al citosol después de la degradación [10], [20], (Fig 2).

2.4. Autofagia y ejercicio físico

Sabemos que la autofagia juega un papel importante en el mantenimiento del equilibrio metabólico durante el ejercicio, pero ¿cómo se produce la autofagia durante el ejercicio exactamente?

Durante la contracción muscular, los niveles de calcio, NAD⁺, AMP y ROS aumentan. Estos mensajeros moleculares activan a sus respectivos efectores, CaMK/calcineurina, SIRT1, AMPK y p38. Esto, a su vez, inicia la autofagia y potencia la transcripción a largo plazo.

AMPK puede iniciar la activación de la autofagia a través de la inhibición de MTOR y la fosforilación de ULK1 una vez que se ha disociado del complejo MTOR. Después de esto, ya seguirían la fase de nucleación y elongación del autofagosoma como hemos visto anteriormente.

Por otro lado, la calcineurina, SIRT1 y AMPK son los encargados de potenciar la transcripción a largo plazo, y esto también ayuda a que se produzca la autofagia, ya que la autofagia está asociada a los factores de transcripción FoxO3, y si aumenta la transcripción, aumenta también la transcripción de estos factores [23], (Fig 3).

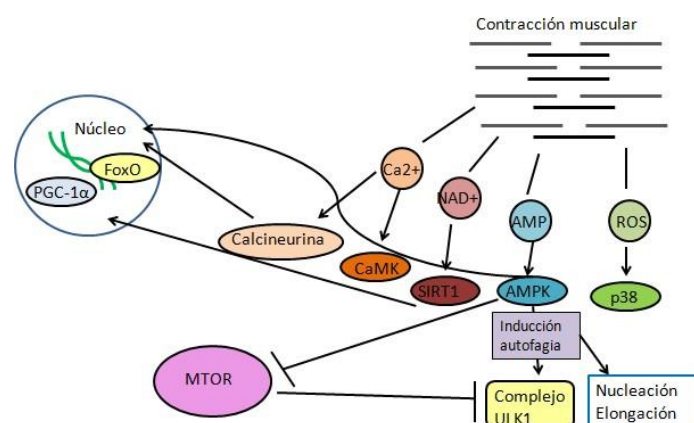


Fig. 3. Autofagia y contracción muscular.

Gracias a este proceso, se dan adaptaciones al ejercicio a largo plazo potenciadas por la autofagia. El ejercicio inicia una cascada de reacciones que conducen a aumentar el estrés oxidativo, el desequilibrio energético y el calcio intracelular. Todo ello, puede inducir la activación de la autofagia, y como resultado, la autofagia interviene en el equilibrio entre la síntesis y degradación de proteínas, el ajuste de la actividad mitocondrial, las adaptaciones metabólicas y la angiogénesis. Todas estas adaptaciones unidas mejoran el rendimiento en resistencia y la homeostasis de glucosa y lípidos [23].

Además de todas estas adaptaciones al ejercicio, la autofagia también cuenta con una serie de beneficios asociados como son la mejora de la capacidad oxidativa, la conservación de la masa muscular durante el envejecimiento, interviene en la regulación de la glucosa y protege contra ROS [6], [7], [13], [15], [21].

3. CONCLUSIONES

La autofagia es un proceso complejo en el que intervienen muchas moléculas y reguladores. La degradación autofágica de contenido celular y orgánulos es fundamental para el equilibrio y vitalidad de la célula, y más específicamente

camente, dentro del músculo esquelético, ya que es uno de los procesos encargados del mantenimiento de la homeostasis celular dentro de las fibras del mismo, sin embargo, todavía es un misterio qué grado de ejercicio hay que alcanzar para que se active la autofagia en mayor o menor medida.

En definitiva, pienso que es un tema poco investigado y que resultaría bastante interesante para saber cómo el organismo es capaz de recuperarse, renovar material y mantener el equilibrio metabólico durante y después de realizar ejercicio.

REFERENCIAS

- [1] L.Z. Agudelo, T. Femenía, F. Orhan, M. Porsmyr-Palmertz, M. Goiny, V. Martinez- Redondo, J.C. Correia, M. Izadi, M. Bhat, I. Schuppe-Koistinen, A.T. Pettersson, D.M.S. Ferreira, A. Krook, R. Barres, J.R. Zierath, S. Erhardt, M. Lindskog and J.L. Ruas, "Skeletal muscle PGC-1 α modulates kynurenine metabolism and mediates resilience to stress-induced depression," *Cell*, vol. 159, no. 1, pp. 33-45, Sep 2014, doi: 10.1016/j.cell.2014.07.051.
- [2] F.W. Booth, C.K. Roberts and M.J. Laye, "Lack of exercise is a major cause of chronic diseases," *Comprehensive Physiology*, vol. 2, no. 2, pp. 1143-1211, Apr 2012, doi: 10.1002/cphy.c110025.
- [3] E. Cebollero and F. Reggiori, "Regulation of autophagy in yeast *Saccharomyces cerevisiae*," *Biochimica et Biophysica acta*, vol. 1793, no. 9, pp. 1413-1421, Sep 2009, doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.01.008.
- [4] F. Cecconi and B. Levine, "The role of autophagy in mammalian development: cell makeover rather than cell death," *Developmental Cell*, vol. 15, no. 3, pp. 344-357, Sep 2008, doi: 10.1016/j.devcel.2008.08.012.
- [5] A.N. Hale, D.J. Ledbetter, T.R. Gawriluk and E.B. Rucker, "Autophagy: regulation and role in development," *Autophagy*, vol. 9, no. 7, pp. 951-972, Jul 2013, doi: 10.4161/auto.24273.
- [6] J.F. Halling, S. Ringholm, M.M. Nielsen, P. Overby and H. Pilegaard, "PGC-1 α promotes exercise-induced autophagy in mouse skeletal muscle," *Physiological reports*, vol. 4, no. 3, Feb 2016, doi: 10.14814/phy2.12698.
- [7] J.F. Halling and H. Pilegaard, "Autophagy-Dependent Beneficial Effects of Exercise," *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, vol. 7, no. 8, Aug 2017, doi: 10.1101/cshperspect.a029777.
- [8] C. He, M.C. Bassik, V. Moresi, K. Sun, Y. Wei, Z. Zou, Z. An, J. Loh, J. Fisher, Q. Sun, S. Korsmeyer, M. Packer, H.I. May, J.A. Hill, H.W. Virgin, C. Gilpin, G. Xiao, R. Bassel-Duby, P.E. Scherer and B. Levine, "Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis," *Nature*, vol. 481, no. 7382, pp. 511-515, Jan 2012, doi: 10.1038/nature10758.
- [9] A. Kaur and S. Sharma, "Mammalian target of rapamycin (mTOR) as a potential therapeutic target in various diseases," *Inflammopharmacology*, vol. 25, no. 3, pp. 293-312, Jun 2017, doi: 10.1007/s10787-017-0336-1.
- [10] A. Kelekar, "Autophagy," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1066, pp. 259-271, Dec 2005, doi: 10.1196/annals.1363.015.
- [11] B. Levine and D.J. Klionsky, "Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy," *Developmental cell*, vol. 6, no. 4, pp. 463-477, Apr 2004, doi: 10.1016/S1534-5807(04)00099-1.
- [12] V.A. Lira, M. Okutsu, M. Zhang, N.P. Greene, R.C. Laker, D.S. Breen, K.L. Hoehn and Z. Yan, "Autophagy is required for exercise training-induced skeletal muscle adaptation and improvement of physical performance," *FASEB Journal*, vol. 27, no. 10, pp. 4184-4193, Oct 2013, doi: 10.1096/fj.13-228486.
- [13] X. Liu, Y. Niu, H. Yuan, J. Huang and L. Fu, "AMPK binds to Sestrins and mediates the effect of exercise to increase insulin-sensitivity through autophagy," *Metabolism*, vol. 64, no. 6, pp. 658-665, Jun 2015, doi: 10.1016/j.metabol.2015.01.015.
- [14] F. Lo Verso, S. Carnio, A. Vainshtein and M. Sandri, "Autophagy is not required to sustain exercise and PRKAA1/AMPK activity but is important to prevent mitochondrial damage during physical activity," *Autophagy*, vol. 10, no. 11, pp. 1883-1894, Nov 2014, doi: 10.4161/auto.32154.
- [15] L. Luo, A.M. Lu, Y. Wang, A. Hong, Y. Chen, J. Hu, X. Li and Z.H. Qin, "Chronic resistance training activates autophagy and reduces apoptosis of muscle cells by modulating IGF-1 and its receptors, Akt/mTOR and Akt/FOXO3a signaling in aged rats," *Experimental gerontology*, vol. 48, no. 4, pp. 427-436, Apr 2013, doi: 10.1016/j.exger.2013.02.009.
- [16] M.C. Maiuri, E. Zalckvar, A. Kimchi and G. Kroemer, "Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis," *Nature reviews. Molecular cell biology*, vol. 8, no. 9, pp. 741-752, Sep 2007, doi: 10.1038/nrm2239.
- [17] N. Mizushima, "The pleiotropic role of autophagy: from protein metabolism to bactericide," *Cell death and differentiation*, vol. 12, no. Suppl. 2, pp. 1535-1541, Nov 2005, doi: 10.1038/sj.cdd.4401728.
- [18] N. Mizushima, "Autophagy: process and function," *Genes & development*, vol. 21, no. 22, pp. 2861-2873, Nov 2007, doi: 10.1101/gad.1599207.
- [19] T. Shintani and D.J. Klionsky, "Autophagy in health and disease: a double-edged sword," *Science*, vol. 306, no. 5698, pp. 990-995, Nov 2004, doi: 10.1126/science.1099993.
- [20] B.T. Tam and P.M. Siu, "Autophagic cellular responses to physical exercise in skeletal muscle," *Sports medicine*, vol. 44, no. 5, pp. 625-640, May 2014, doi: 10.1007/s40279-013-0140-z.
- [21] B.T. Tam, X.M. Pei, A.P. Yu, T.K. Sin, K.K. Leung, K.K. Au, J.T. Chong, B.Y. Yung, S.P. Yip, L.W. Chan, C.S. Wong and P.M. Siu, "Autophagic adaptation is associated with exercise-induced fibre-type shifting in skeletal muscle," *Acta physiologica*, vol. 214, no. 2, pp. 221-236, Jun 2015, doi: 10.1111/apha.12503.
- [22] S.A. Tooze and T. Yoshimori, "The origin of the autophagosomal membrane," *Nature cell biology*, vol. 12, no. 9, pp. 831-835, Sep 2010, doi: 10.1038/ncb0910-831.
- [23] A. Vainshtein and D.A. Hood, "The regulation of autophagy during exercise in skeletal muscle," *Journal of applied physiology*, vol. 120, no. 6, pp. 664-673, Mar 2016, doi: 10.1152/jappphysiol.00550.2015.



Judit Gutiérrez Navarro finalizó sus estudios de Grado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte en la Universidad Pablo de Olavide en el año 2017. Actualmente está cursando el Máster en Profesorado de Educación Secundaria en la Universidad de Sevilla.

EL AULA NATURA EN LOS CENTROS EDUCATIVOS: UN MEDIO IDEAL PARA LA EDUCACIÓN AMBIENTAL Y LA INTEGRACIÓN ESCOLAR

(UN ESTUDIO EXPLORATORIO)

DANIEL MUSITU FERRER

Profesor de Ciencias en el Colegio San Vicente de Paúl (Alcoy)
dani.musitu@colegiopaulalcoy.com

Resumen—El presente estudio trata de indagar en la capacidad que pueden tener las Aulas de la Naturaleza dentro de los propios centros escolares, para desarrollar una educación ambiental significativa y favorecer la integración escolar. El Aula Natura situada dentro del centro escolar San Vicente de Paúl en Alcoy, es una gran oportunidad para estudiar los cambios actitudinales y el desarrollo de la sensibilidad hacia los problemas ambientales actuales, tanto del alumnado como del resto de la comunidad educativa. Se ha constatado que el desarrollo de actividades en el Aula Natura, donde el alumnado se siente protagonista de su propio aprendizaje, favorece los cambios actitudinales y el desarrollo de su sensibilidad hacia dichos problemas. Por otro lado, y de forma indirecta, el Aula Natura mejora la integración de los alumnos con problemas actitudinales y por lo tanto, el ambiente general del propio centro escolar.

Palabras Claves— Actitudes, Ambiental, Aula Natura, Educación, Sensibilidad.

1. INTRODUCCIÓN

El Aula de la Naturaleza se podría definir como un espacio educativo en contacto con el medio natural, que tiene como principal finalidad la de sensibilizar y concienciar al alumnado respecto de las problemáticas ambientales.

Se ha constatado a través de numerosas experiencias, Novo [1], Hernández [2], Heike [3] que las aulas de la naturaleza son un recurso muy significativo para la educación ambiental. Como ya mostraron Álvarez et al. [4], estos espacios suponen una oportunidad para que todo la comunidad educativa entre en contacto directo con el propio espacio natural, lo cual genera una información desconocida para la gran mayoría y promueve emociones que pueden llegar a cambiar su relación personal con el medio ambiente.

Las actividades de educación ambiental que se pueden llevar a cabo en estas aulas son muy variadas: huertos escolares/sociales, convivencias, interpretación del entorno, sensibilización con los elementos del entorno (olfato, tacto, oído...), docencia en el ámbito de las ciencias y de otras disciplinas, etc. Estas experiencias proporcionan a los participantes información fundamental para profundizar en el conocimiento del medio ambiente y sus creencias respecto del mismo, lo cual, como ya mostraron Leff [5], Martínez-Alier [6] es un paso indispensable para promover la transición desde un modelo sostenible a un modelo sustentable.

El Aula Natura (a partir de ahora AN) surge del interés y la motivación del profesorado del Colegio San Vicente de Paúl por profundizar en el conocimiento del medio ambiente natural y mejorar la calidad educativa a partir de un espacio natural privilegiado vinculado a un centro educa-

tivo. Está situado en la ciudad de Alcoy, Alicante, en una ubicación muy especial que linda con el Parque Natural de la Sierra de Mariola. El AN está situada en un pinar de 5000 metros cuadrados que comunica con los espacios de recreo del propio centro escolar. Fue hace unos 10 años cuando el profesorado y la dirección fueron concienciándose de la necesidad de apostar por una educación más próxima hacia el medio ambiente, al considerar el gran recurso que era disponer de un espacio protegido en el mismo centro educativo. Para lograrlo, se creó hace 5 años el Área de Mejora Medioambiental, con el objetivo de coordinar los diferentes proyectos que impulsarían esta nueva línea de trabajo. A partir de esta experiencia se propuso hace tres años la creación del Aula Natura y, de esta manera, poner en valor un espacio excepcional y muy poco común en los centros educativos, tanto de la Comunidad Valenciana como del resto de España.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

El objetivo del AN es potenciar el desarrollo integral de toda la comunidad educativa a través de una educación ambiental realmente significativa en la que todos aprenden de todos desde una perspectiva tanto local como global, teniendo siempre en el horizonte la sensibilización y el respeto por el medio ambiente y el de mejorar el medio socio-ambiental en el que convivimos. Por lo tanto, trataremos de analizar las actitudes y la efectividad que supone realizar actividades de educación ambiental en el cambio de paradigma de los alumnos.

2.2. Objetivos específicos

Uno de los objetivos primordiales de las actividades realizadas en el AN, como ya comentó Heike [3], es que todo

el alumnado del centro, desde infantil hasta ESO y ciclos formativos, participen de forma activa en el crecimiento y desarrollo de la propia aula, dando apoyo a todo el profesorado del centro en sus asignaturas curriculares.

De este modo, se facilita la metodología activa e investigativa, fomentando la autonomía personal y el análisis crítico de las situaciones sociales y ambientales. Por lo tanto, los objetivos específicos son los siguientes:

1. Estudiar los cambios producidos en el alumnado en el ámbito actitudinal en relación con la protección del medio ambiente.
2. Analizar la sensibilidad del alumnado respecto de los problemas ambientales a partir del AN.
3. Identificar el significado que el AN tiene para el alumnado y el profesorado.

3. MÉTODO

3.1. Muestra

A pesar de que, como ya hemos comentado anteriormente, todo el alumnado del centro va a ser partícipe del desarrollo de actividades de educación ambiental en el AN, la muestra de estudio está constituida específicamente por el alumnado de ESO. Se trata de una muestra de 230 alumnos comprendidos entre los 12 y los 16 años de edad que corresponde a los cursos comprendidos entre 1º y 4º de ESO.

3.2. Instrumentos

Para la evaluación del AN sus implicaciones, significados y potenciales efectos en el centro, en este caso a partir del alumnado y profesorado, se utilizaron breves escalas tipo Likert de cuatro ítems cada una con las siguientes opciones: muy en desacuerdo, en desacuerdo, de acuerdo, muy de acuerdo. Las escalas fueron las siguientes:

Escala CAPA (Cambios Actitudinales respecto de los Problemas Ambientales), Escala SPA (Sensibilidad hacia los Problemas del Medio Ambiente), Escala SAN (Significado del Aula Natura en el centro) y finalmente se utilizó un ítem tipo Likert con cuatro opciones de respuesta para evaluar el reciclaje de envases tanto en el profesorado como en el alumnado.

3.3. Análisis

Se utilizó un diseño cuasi-experimental pre-post. Al inicio del año escolar, 2017-2018, se evaluaron las actitudes, la

sensibilidad y el reciclaje de residuos. Y el significado del AN se evaluó a final del curso académico.

3.4. Procedimiento

Todos los proyectos que actualmente se desarrollan están siendo llevados a cabo únicamente por el alumnado del centro con la guía del profesorado. Los proyectos de educación ambiental que se están desarrollando en el centro son los siguientes:

Cajas nido: Los alumnos investigan sobre los diferentes variables que afectan la ocupación de las cajas así como la propia evolución de la población.

Senda botánica: Los alumnos desarrollan diferentes competencias a través de la búsqueda e interpretación de las diferentes especies vegetales.

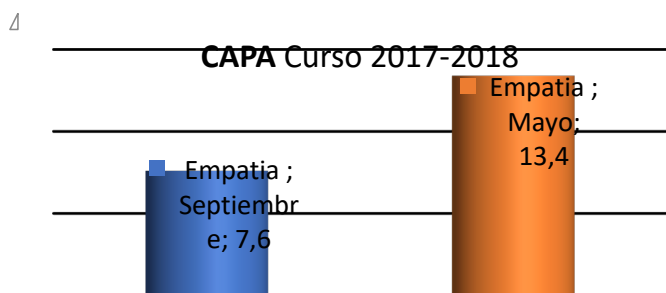
Charca: Se han utilizado ruedas de tractor para su construcción y aunque actualmente se encuentra en fase final de construcción

Espacio de convivencia: El contacto con la naturaleza, como ya demuestra Corraliza [7], un espacio reconfortante y liberador nos produce bienestar. Por lo que utilizamos este espacio como lugar de convencia y apadrinamiento entre los diferentes alumnos del centro, así como espacio para reflexionar y discutir sobre las diferentes problemáticas ambientales y sociales.

En proceso de implantación se encuentran los siguientes proyectos: un huerto escolar, que como ya constatan Rodríguez et al. [8], está más que contrastado los beneficios que aporta el huerto escolar en la producción de emociones, fundamentales para la educación ambiental en sustentabilidad. Por otra parte también se está, realizando trabajos en la creación de un gallinero y cajas nido para insectos y murciélagos.

4. RESULTADOS

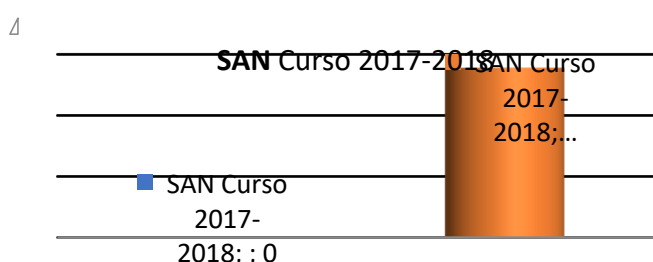
Los resultados de las diferentes escalas tipo Likert sobre las implicaciones, significados y potenciales efectos en el alumnado y profesorado del AN son los siguientes:



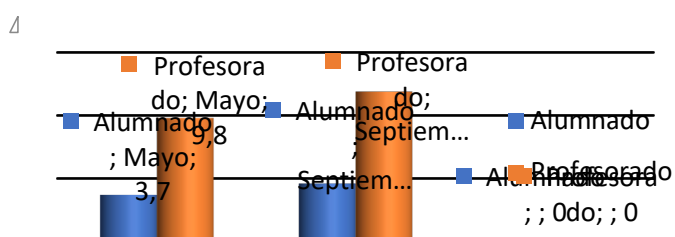
Gráfica 1. La evolución de los cambios actitudinales desde septiembre ($\bar{x}=7,6$) a mayo ($\bar{x}=13,4$) son realmente significativos



Gráfica 2. (SPA curso 2017-2018) se muestra la evolución de la sensibilidad de las chicas frente a los chicos, desde septiembre (\bar{x} chicos=5,6 y \bar{x} chicas=7,9) a mayo (\bar{x} chicos=10,8 y \bar{x} chicas=13,8), destacando una mayor sensibilidad tanto en el pretest como en el postest.



Gráfica 3. Se aprecia el alto significado ($\bar{x}=13,9$) que ha adquirido el AN en el desarrollo educativo del centro escolar.



Gráfica 4. Muestra claramente una evolución muy positiva desde septiembre ($\bar{x}=4,6$) hasta mayo ($\bar{x}=11,9$), de la actitud tanto del profesorado como del alumnado septiembre ($\bar{x}=3,7$) a mayo ($\bar{x}=9,8$) hacia el reciclaje de los envases.

5. CONCLUSIONES

El objetivo fue analizar los cambios efectuados en las actitudes de toda la comunidad educativa, especialmente en el alumnado, tanto hacia los problemas ambientales como su posterior evolución.

Se ha constado un cambio muy significativo en la actitud (gráfica 1), ya que ha sido uno de los objetivos fundamentales desarrollados a través de las diferentes actividades

de educación ambiental en el AN. En todas las actividades realizadas se ha hecho hincapié en la necesidad de cambiar hábitos y actitudes hacia los problemas ambientales a los que nos enfrentamos.

También se ha constatado una evolución positiva de la sensibilidad del alumnado. En este caso, hemos realizado un análisis comparativo entre la evolución por sexos y como puede verse en la gráfica 2 y ya mostraron Moreno et al. [9], inicialmente la sensibilidad es mayor en las chicas que en los chicos. Gracias al efecto del AN ambos sexos han evolucionado de forma muy parecida, por lo que tras el post continúan siendo las chicas, las que siguen desarrollando mayor sensibilidad.

Por otra parte, el AN también ha tenido un efecto muy positivo para desarrollar el proyecto de reciclaje (gráfica 3 y 4). Uno de los problemas ambientales más importante del planeta y gracias a las diferentes actividades realizadas en el AN, tanto el alumnado como el profesorado, se han implicado activamente en su desarrollo y mejora.

Una de las facetas que nos ha parecido más interesantes del desarrollo de actividades de educación ambiental en este tipo de espacios, ha surgido al trabajar con alumnos con comportamientos disruptivos dentro del aula convencional. Se ha constatado, aunque indirectamente, que el trabajo tanto individual como grupal en estos espacios, ayuda a la integración de estos alumnos y al desarrollo de sus competencias. Este resultado, producto de la interacción con el AN, se considera muy relevante para una futura exploración e investigación más rigurosa es posteriores estudios y trabajos, tanto por su interés en la motivación dentro del aula como la mejora del ambiente en el centro.

La búsqueda constante de un aprendizaje significativo, en el que el alumnado sea el protagonista del desarrollo de su propio conocimiento, potenciando su espíritu crítico y reflexivo aporta al AN un gran potencial, por lo que estamos actualmente trabajando en esta dirección para seguir profundizando y evolucionando.

REFERENCIAS

- [1] Novo, M. (n.d./2010). "Los vínculos escuela/medio ambiente: la educación ambiental". Addendas. Universidad de Oviedo
- [2] Hernández Rojas, L.M (2004). "El paisaje como recurso didáctico". Revista Biocenosis, 18
- [3] Heike, F. (2011). Educar en verde. "Ideas para acercar a niños y niñas a la naturaleza". Editorial GRAO de IRIF, S.L.
- [4] Álvarez, M.F., Mayoral, N., Sara, C. (2015). "Ideas previas sobre el concepto de sustentabilidad en estudiantes de nivel secundario". Jornadas de Enseñanza e Investigación Educativa en el campo de las Ciencias Exactas y Naturales Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación. Universidad Nacional de La Plata.
- [5] Leff, E. (2012). "Decrecimiento o desconstrucción de la economía". Polis [En línea], 21 | 2008.
- [6] Martínez- Alier, J. (2008). "Conflictos Ecológicos y justicia ambiental". Papeles de Relaciones ecosociales y cambio global, 103, 11-27.
- [7] Corraliza, J.A. (2014). "Los parques y la vida humana: interacciones entre la naturaleza protegida y las personas". Ambianta: La revista del Ministerio de Medio Ambiente, 106, 90-103.

- [8] Rodríguez Marín, F., Fernández Arroyo, J. y García Díaz, J.E. (2015). "El huerto escolar ecológico como herramienta para la educación en y para el decrecimiento". Revista Investigación en la Escuela, 86, 35-48.
- [9] MORENO, A.; RODRÍGUEZ. (2016) E. "Informe de juventud en España 2012". Metamorfosis, 112-118.



Daniel Musitu Ferrer recibió el título de Licenciado en Ciencias Biológicas por la Universidad de Valencia en 2001. En 2002 realizó un master en Ingeniería y Medio Ambiente Industrial (AINIA-EOI). Desde 2004 hasta la actualidad realiza su formación docente como profesor de ciencias en el Colegio San Vicente de Paúl de Alcoy, donde actualmente desarrolla un proyecto de Educación Ambiental a través de la creación de un Aula Natura dentro del propio centro escolar. Ha formado parte del grupo "Recicla l'Escola" como coordinación desde el año 2005 al 2010. En el año 2017 realiza un Master Interuniversitario en Educación Ambiental en la Universidad Pablo de Olavide con el itinerario investigador y en el que se encuentra actualmente en proceso de finalización.

Cáncer gástrico: Nuevos tratamientos

M^a Eugenia Martín- Vázquez García

Resumen— El cáncer gastrointestinal, aún sin ser una enfermedad de renombre, constituye una de las principales causas de mortalidad a nivel global. Existen diversos tipos, cada uno de ellos con un fenotipo distinto, de modo que se trata de un tumor muy heterogéneo, lo cual dificulta el desarrollo de un tratamiento verdaderamente efectivo contra él, al focalizarse los tratamientos convencionales en dianas específicas características únicamente de algunos de los tipos. La inmunoterapia constituye una alternativa terapéutica que está demostrando ser muy eficaz en el tratamiento de este tipo de cáncer, al no focalizarse en dianas extremadamente específicas y fomentar la movilización del sistema inmune para hacer frente al tumor, permitiendo abarcar más subtipos y de ese modo, constituyendo un nuevo tratamiento prometedor para pacientes que sufren la enfermedad.

Palabras Claves— Cáncer gástrico, inmunoterapia, tratamiento.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer gastrointestinal (GC) es un tumor maligno y bastante agresivo, muy frecuente y extendido por todo el mundo, constituyendo la segunda causa de mortalidad relacionada con cáncer, y la cuarta enfermedad maligna más diagnosticada, con un valor aproximado de 740,000 muertes y 990,000 nuevos casos diagnosticados por año, datos enormemente sorprendentes, que revelan la importancia de tratamientos eficientes contra el mismo.

1.1. Cáncer gástrico: características de la enfermedad y situación actual

A pesar del progreso realizado en el campo de las terapias contra el cáncer en los últimos años, existe una necesidad muy importante de nuevos medicamentos y tratamientos, con el fin de aumentar la eficacia y reducir la toxicidad de los agentes anticancerígenos disponibles actualmente, y con el objetivo general de mejorar resultados del tratamiento de neoplasias gastrointestinales.

La extirpación quirúrgica completa del GC junto con la de los ganglios linfáticos adyacentes es la principal opción curativa actualmente. Desafortunadamente, debido a la fase temprana asintomática de la enfermedad, muchos pacientes se diagnostican en etapas avanzadas, cuando es demasiado tarde para la extirpación.

El GC se considera una enfermedad heterogénea asociada a diversas mutaciones genéticas. [1,3]. Alrededor del 80-90% de los carcinomas gástricos se desarrollan de forma esporádica, el 10-20% parece estar asociado a una causa familiar, y aproximadamente 1-3% presentan una clara herencia genética [2]. El enfoque de tratamiento único para todos los tipos que existen se considera un motivo clave del fracaso asociado a estos ensayos. Es por esto que los avances realizados para aumentar la tasa de supervivencia de los pacientes que padecen GC han sido mucho más lentos que los relacionados con otros tipos de cáncer en la última década. [1,3].

1.2. Clasificación molecular de los distintos tipos de cáncer gástrico

La clasificación de la OMS (Organización Mundial de la Salud) describe cuatro tipos histológicos de GC (papilar, tubular, mucinoso y mal cohesivo). La clasificación de Lauren, por otra parte, los clasifica en intestinales, difusos y subtipos mixtos. Ninguna de estas dos clasificaciones tiene un valor pronóstico, de modo que no pueden ayudar a guiar el enfoque terapéutico.

Recientemente, ha sido publicada una clasificación molecular (Tabla 1). El Grupo Atlas del Genoma del Cáncer ha propuesto cuatro grandes subtipos moleculares, que serían: i) los más frecuentes, que se caracterizan principalmente por la inestabilidad cromosómica (CIN), ii) los asociados a inestabilidad de microsatélites, que se caracterizan por presentar una elevada tasa de mutación y metilación del ADN, iii) los genómicamente estables y iv) tumores positivos para el virus de Epstein Barr.

Esta clasificación representa una nueva oportunidad para la identificación de nuevos objetivos moleculares y el diseño de nuevas terapias [2,4].

Sub-tipos	Características moleculares
EBV (9%)	- Hipermetilación del ADN - Elevada frecuencia de mutaciones PIK3CA - Sobreexpresión de PDL1/PDL2
MSI (22%)	- Elevada tasa de mutaciones - Metilación del ADN
GS (20%)	- Alteraciones moleculares en las vías implicadas en adhesión celular/ migración celular - Mutaciones en ARID1 y BCOR
CIN (50%)	- Inestabilidad cromosómica - Amplificación de genes codificantes de receptores de tirosina quinasa (HER)

Tabla 1. Clasificación molecular de los distintos tipos de cáncer gástrico propuesta por el Grupo Atlas del Genoma del Cáncer. EBV= Virus Epstein Barr; MSI= Inestabilidad de Microsatélites; GS= Genómicamente Estables; CIN= Inestabilidad Cromosómica. Modificado de [2].

2. TRATAMIENTO CONVENCIONAL DE LA ENFERMEDAD

El tratamiento convencional de la enfermedad se basa en el empleo de fármacos cuyas dianas son receptores celulares y rutas específicas con implicación en la aparición y desarrollo de este tipo de cáncer.

2.1. Dianas moleculares y principales fármacos desarrollados hasta la actualidad

2.1.1. HER2

El receptor HER2 es un miembro de la Familia de Receptores del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR), que presenta una serie de propiedades únicas, al carecer de ligandos específicos que se unan a él con elevada afinidad (Figura 1). Su activación se debe a su homo / heterodimerización espontánea con otros receptores de la familia EGFR. [2,4]

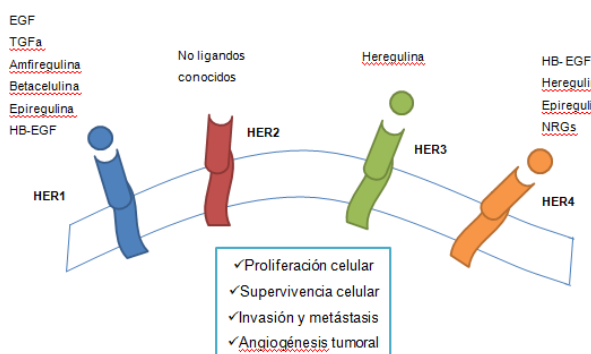


Fig 1. Familia de Receptores de Tirosina Quinasas HER, sus ligandos específicos y las vías de transducción de señales en las que participan. Modificado de [2].

HER2 sufre una serie de amplificaciones en el tumor gástrico, de modo que se han realizado estudios para evaluar la eficacia terapéutica potencial de su empleo como diana en este contexto, como el estudio ToGA, que evaluó el medicamento Trastuzumab, un anticuerpo monoclonal dirigido específicamente contra el dominio extracelular de HER2, más un tratamiento de quimioterapia en contraposición con el tratamiento de quimioterapia sola en pacientes de cáncer gástrico avanzado que mostraban un genotipo de sobreexpresión de HER2 (HER2+). La supervivencia global fue significativamente mayor en pacientes que recibieron el Trastuzumab junto con la quimioterapia, así como la tasa de respuesta global y la duración de la respuesta al tratamiento, que también se incrementaron en pacientes que reciben Trastuzumab.

Por el contrario, se vio que en aquellos pacientes de cáncer gástrico que presentaban baja expresión de HER2, el tratamiento con Trastuzumab no mejoró su supervivencia. Por lo tanto, tomando estos resultados en conjunto, se pudo afirmar que el tratamiento con Trastuzumab proporciona beneficio terapéutico únicamente a aquellos pacientes que muestran una elevada tasa de expresión de HER2. [1,2]

2.1.2. Ruta MET/ HGF

La alteración genética más frecuente relacionada con el Receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (codificado por el gen MET) es su amplificación génica, que se asocia con una supervivencia mucho menor en los pacientes de cáncer gástrico que la presentan. HGF es el factor de crecimiento que promueve la migración celular y la supervivencia de los hepatocitos, y que se une a su receptor, codificado por MET. Se han desarrollado varios ensayos clínicos para evaluar medicamentos dirigidos al eje central de unión de MET /HGF, sin embargo, dichos ensayos fueron prematuramente cancelados, debido a un aumento en el número de muertes en aquellos pacientes a los que se les suministraban dichos medicamentos, junto con la toxicidad que llevaban asociada. [2,4]

Por lo tanto, a pesar de los alentadores resultados obtenidos a nivel preclínico, los resultados de la mayoría de los ensayos que emplean medicamentos dirigidos contra MET en cáncer gástrico son muy negativos, lo cual por un lado, plantea dudas sobre la utilidad de emplear este oncogen como diana para tratar el cáncer gástrico, y por otro, hace urgente la necesidad de desarrollo de nuevos medicamentos o tratamientos para aquellos pacientes cuyo subtipo de cáncer gástrico no sea CIN, dado que aunque es el mayoritario, no es el único.

3. TRATAMIENTO CONVENCIONAL DE LA ENFERMEDAD

3.1. Inmunoterapia

Varios estudios han demostrado que la inmunoterapia podría proporcionar una ventaja terapéutica en muchos tipos de cáncer, incluyendo el cáncer gástrico. Actualmente, la estrategia más prometedora se basa en los inhibidores de los puntos de control del sistema inmune. Estos puntos de control inmunológico (que incluyen a PD-1 y CTLA-4) son vías inhibitorias cruciales para mantener la auto tolerancia, o tolerancia a antígenos propios.

Se sabe que a través de mecanismos como la eliminación, el equilibrio y el escape, las células cancerosas se vuelven invisibles para el sistema inmune. La comprensión de los mecanismos a través de los cuales las células tumorales escapan del sistema inmune condujo a numerosos avances en el campo de la inmunooncología, así como al desarrollo de varios agentes específicos con objetivo de impedir el escape de dichas células, incluidos anticuerpos anticitotóxicos del antígeno linfocítico T4 (CTLA-4) o inhibidores del receptor de muerte programada 1 (PD-1), por unión a su ligando (PD-L1).

CTLA-4 es una molécula inhibidora de receptor expresada en células T citotóxicas, y se coordina con CD80 o CD86, presentes en células presentadoras de antígeno para suprimir la actividad citotóxica de las células T ante antígenos propios. Sin embargo, la unión de CD28, un receptor coestimulador presente en las células T, a CD80 o CD86 compite con CTLA-4 por unirse a estas moléculas, de modo que cuando se unen a CD28 se induce la actividad citotóxica de las células T, por lo que constituiría un posible enfoque para atacar al tumor, mediante la inhibición de CTLA-4.

También destaca PD-1, que es otro inhibidor de receptor de superficie celular expresado en células T CD8 + que se une a sus ligandos (PD-L1 o PD-L2), presentes en las células presentadoras de antígenos, para suprimir la respuesta inmune del huésped. Por lo tanto, se esperaría que un bloqueo de PD-L1 mejorara las reacciones inmunes tempranas en órganos linfoides junto con reacciones inmunes tardías en otros lugares, lo cual afectaría a la formación del tumor.

Así mismo, la inmunoterapia celular adoptiva (ACI) se propone como una alternativa terapéutica eficaz para el tratamiento de diversos tumores, aún siendo la migración de células inmunes adoptivas su principal limitación. Diversos estudios proponen la irradiación de baja dosis (LDI) como método para mejorar la trans migración de linfocitos T citotóxicos sobre las células responsables del cáncer gástrico. De modo que el tratamiento con ACI combinado con irradiación LDI ha proporcionado evidencias en lo que respecta al reclutamiento de células antitumorales, suponiendo otra posibilidad de inmunoterapia eficaz en este contexto.

Durante más de una década, el campo de la inmunoncología ha estado en el punto de mira debido a los innovadores éxitos que se han logrado en los ensayos llevados a cabo en este sentido en varios tipos de cáncer, incluyendo el GC, sobre el cuál se encuentran en curso varios ensayos. [1, 2, 5]

3.2. Potenciales marcadores en cáncer gástrico

En estudios recientes, se ha demostrado que la mayoría de mutaciones somáticas características de los cánceres que presentan una elevada tasa de mutaciones (como es el caso del MSI GC) da lugar a la expresión de numerosos neoantígenos de superficie que son presentados a las células del sistema inmune, de modo que fomentan la inmunostimulación, por lo que se espera que los pacientes con cáncer que presentan estas características sean candidatos óptimos para tratamientos basados en inmunoterapia. Sin embargo, la eficacia de la inmunoterapia basada en las características de la MSI como biomarcadores en el GC, no se ha evaluado hasta la fecha, al tratarse de hipótesis muy recientes.

Cuatro pacientes con MSI GC están participando en el estudio denominado KEYNOTE 012, desarrollado en la actualidad. Se está llevando a cabo un estudio de fase II del medicamento Nivolumab, un anticuerpo monoclonal humano de tipo G4 (IgG4) que se une al receptor de muerte programada 1 (PD-1) y bloquea su interacción con PD-L1 y PD-L2, de modo que potencia las respuestas de los linfocitos-T, incluyendo respuestas antitumorales, por medio del bloqueo de dicho receptor PD-1, con o sin Ipilimumab, que es otro anticuerpo monoclonal que actúa como inhibidor de puntos de control inmunitario, a través de su unión a CTLA-4, que se encuentra en la superficie de las células T, de modo que ayuda al sistema inmunitario a destruir células cancerosas. Este estudio se realiza con el fin de evaluar la eficacia de estos nuevos medicamentos en tumores gastrointestinales que muestran una tasa de MSI alta.

Así mismo, los pacientes con GC inscritos en el ensayo

KEYNOTE 012 han mostrado una mejora en lo que respecta a su supervivencia gracias al medicamento Pembrolizumab, otro tipo de inhibidor de puntos de control del sistema inmune que también actúa uniéndose a la proteína PD-1 en las células T, contribuyendo a la destrucción de las células cancerosas. Es por todo esto que se espera que estos resultados positivos fomenten el desarrollo de estudios adicionales, con un número de pacientes mayor, con el fin de identificar los potenciales biomarcadores predictivos de este cáncer gástrico, para continuar desarrollando medicamentos basados en la potenciación de la respuesta inmune. [1]

4. CONCLUSIONES

En los últimos años, se han estudiado y desarrollado diversas drogas moleculares para tratar el cáncer gástrico pero, con la excepción de unas pocas que además sólo son útiles para algunos subtipos de GC, la mayoría dieron resultados negativos o incluso, supusieron el empeoramiento de los pacientes.

A pesar de la relativamente elevada prevalencia del cáncer gástrico, este tumor ha sido poco estudiado desde el punto de vista molecular. Recientemente se han llevado a cabo estudios genómicos completos del mismo, que han revelado varias alteraciones moleculares en diversos genes que podrían ser considerados como dianas terapéuticas prometedoras. Así mismo, nos encontramos con el problema de que en función del tipo de cáncer gástrico con el que se trate, las alteraciones moleculares son distintas, de modo que focalizar las terapias en una única diana constituye un error que ha dificultado el desarrollo de tratamientos verdaderamente efectivos. Al contrario que los agentes específicos de la diana, los agentes inmunoncológicos están diseñados para regular e impulsar la inmunidad contra el cáncer, sin necesidad de actuar contra dianas excesivamente específicas, de modo que podrían superar la barrera de la heterogeneidad del tumor, al menos, siendo eficaces contra varios subtipos de GC.

Por tanto, el uso de tratamientos y fármacos basados en inmunoterapia constituye una nueva perspectiva de tratamiento de este cáncer, dados los resultados tan prometedores obtenidos en pacientes con cáncer gástrico. Entre las terapias inmuno-oncológicas, los inhibidores de puntos de control inmunitarios son las más prometedoras hasta la fecha.

Finalmente, resaltar que los desafíos pendientes que presenta el GC se podrían superar a través de la selección apropiada de pacientes en base a sus características moleculares, la combinación efectiva de medicamentos y el tratamiento secuencial adecuado. Para ello, sería necesario realizar más estudios para explorar y validar biomarcadores predictivos útiles. También sería conveniente realizar nuevos estudios preclínicos que exploren combinaciones ideales de los distintos medicamentos disponibles hasta la fecha, incluyendo los inmunomoduladores que han demostrado ser tan prometedores.

5. REFERENCIAS

- [1] H. J. Kim, S. C. Oh, (2018), "Novel Systemic Therapies for Advanced Gastric Cancer", *Journal of Gastric Cancer*, (1):1-19.
- [2] M. Apicella, S. Corso, S. Giordano, (2017), "Targeted therapies for gastric cancer: failures and hopes from clinical trials", *Oncotarget*, 8, (34): 57654-57669.
- [3] Z. W. Myint, G. Goel, (2017), "Role of modern immunotherapy in gastrointestinal malignancies: a review of current clinical progress", *Journal of Hematology & Oncology*, 10:86.
- [4] M. Chivu-Economescu, L. Matei, L. G. Necula, D. L. Dragu, C. Bleotu, C. C. Diaconu, (2018), "New therapeutic options opened by the molecular classification of gastric cancer", *World J Gastroenterol*, 24, (18): 1942-1961.
- [5] J. Du, S. Su, H. Li, J S, F. Meng, M. Yang, H. Qian, Z- Y. Zou, X. Qian, B. Liu, (2017), "Low dose irradiation increases adoptive cytotoxic T lymphocyte migration in gastric cancer", *EXPERIMENTAL AND THERAPEUTIC MEDICINE* 14: 5711-5716.



Mª Eugenia Martín- Vázquez García, recibió el título de Graduada en Biotecnología por la Universidad Pablo de Olavide en 2017. Actualmente es estudiante del Máster de Biotecnología Sanitaria por la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla

El papel de la Oxandrolona en el tratamiento de personas con quemaduras graves

Pilar Ruda-Díaz

Resumen—Oxandrolona es un fármaco anabolizante, derivado sintético de la testosterona. Gracias al enfoque SOSA que esta molécula presenta, está siendo sometida a estudio para tratar a enfermos con quemaduras corporales graves, junto a otros fármacos y otras terapias no farmacológicas que permiten solventar los daños físicos y metabólicos que esta enfermedad produce en las personas. Los resultados que se muestran hasta la fecha hacen confirmar que oxandrolona, en combinación con otros tratamientos farmacológicos y no farmacológicos, sea una alternativa eficaz para una recuperación más rápida y una reducción en el número de visitas hospitalarias de los pacientes con TBSA.

Palabras Claves— Hipermetabolismo, Oxandrolona, Quemados, TBSA, Tratamiento.

1. INTRODUCCIÓN

Las muertes por quemaduras suponen una cifra importante tanto en los países desarrollados como en los subdesarrollados, llegando a ser de hasta 3 veces mayor, en los países en vías de desarrollo que en el resto de países [1]. Aunque la cifra de quemados en los países industrializados es menor, el 1% de estas personas necesita tratamiento para esta causa, y de estos pacientes, el 5% requiere días de hospitalización, siendo el 10% de los mismos los que mueren por dicha enfermedad [2]. Estas circunstancias hacen que sea necesaria la participación por parte de todos para llevar a cabo programas de prevención con el objetivo de intentar reducir el número de muertes por este problema en todo el mundo [3].

Se considera que una persona presenta lesiones por quemaduras graves cuando más del 30% del área superficial corporal total (TBSA) está quemado. Además, esto conlleva a una respuesta hipermetabólica marcada y persistente por parte de las catecolaminas plasmáticas, glucagón, cortisol y mediadores proinflamatorios, a lo que hay que sumarle los cambios fisiológicos que se observan en las lesiones, durante años, después de las quemaduras: catabolismo completo del cuerpo, degradación de las proteínas musculares, aumento de las tasas metabólicas, retraso en el crecimiento, resistencia a la insulina, aumento del riesgo por infección y fallo multiorgánico [4], [5].

La presencia de cualquier lesión importante hace que existan dos fases consecutivas, primero la fase de reflujo, y seguida, fase de flujo. En personas con TBSA, la fase de reflujo se da hasta 72 horas después de la lesión y se caracteriza por un descenso compensatorio en la perfusión de los tejidos y la disminución de la tasa metabólica, mientras que la fase de flujo no tiene por qué ser limitada por el tiempo y la consecuencia de las lesiones fisiológicas. Ambos procesos, pueden derivar en la muerte del paciente si éste no se trata [6]. Por este motivo, la manera de abordar este tipo de enfermedad ha cobrado especial importancia en las últimas décadas [7], desde el uso de

antibióticos para evitar una infección mayor, hasta la administración de otros fármacos, como el propranolol o la oxandrolona, solos o en combinación, estudiándose desde hace unos años para mitigar la respuesta hipermetabólica que se da en personas con quemaduras importantes [2], gracias al enfoque SOSA (optimización selectiva de las actividades secundarias) [8].

Con esta revisión se pretende evaluar la oxandrolona, sola o en combinación con otros fármacos, para tratar a enfermos con quemaduras graves, estableciendo las ventajas e inconvenientes del uso de esta terapia.

2. OXANDROLONA

La oxandrolona ($C_{19}H_{30}O_3$), junto a la nandrolona, es uno de los esteroides anabólicos androgénicos (AAS) más conocidos en la clínica debido a sus aplicaciones miotróficas y androgénicas favorables. Debido a esto, está causando especial atención en el ámbito farmacológico, ya que podría ser eficaz en numerosos estados de diversas enfermedades, como el conjunto de daños que se producen en el cuerpo de personas con quemaduras graves [9]. Es un análogo sintético derivado de la testosterona, de nombre molecular 17 β -hidroxi-17 α -metil-2-oxa-5 α -androstan-3-one [10], [11], [12], como se observa en el proceso de síntesis de la Figura 1. Fue sintetizada en los años 60 por Searly [10], aunque el proceso de síntesis a gran escala presenta una serie de modificaciones y una estrategia diferente a la descrita por este autor. La producción a gran escala requiere de un paso intermedio de bromación, que parte de la mestanolona, para obtener una mezcla racémica de la metil-1-testosterona, generando finalmente la oxandrolona (Figura 1) [12].

La oxandrolona presenta un anillo inusual en su esqueleto esteroideo (anillo A) en el cual, el carbono 2 (C2) ha sido sustituido por un átomo de oxígeno. Esto hace que el carbonilo en el C3 adquiera función éster, dando lugar a un éster cíclico, denominado lactona. La característica principal de este anillo lactona es la imposibilidad de reducirse como cualquier grupo carbonilo, no dándose lu-

gar la conversión metabólica en el C3, es decir, no se reduce a un grupo hidroxilo. El anillo del que hablamos tampoco puede aromatizarse, ya que no hay lugar para un segundo enlace en el mismo. Lo que caracteriza a esta moléculas es que el grupo 17 α -metilo inhibe la oxidación del grupo 17 β -hidroxilo y dificulta la unión con ácido glucurónico o sulfonato. Por lo tanto, esto determina la dificultad de la oxandrolona a ser metabolizada, aunque es muy activa por vía oral. Presenta una actividad anabólica mayor que la metil-1-testosterona, sin presentar muchos efectos secundarios androgénicos [10].

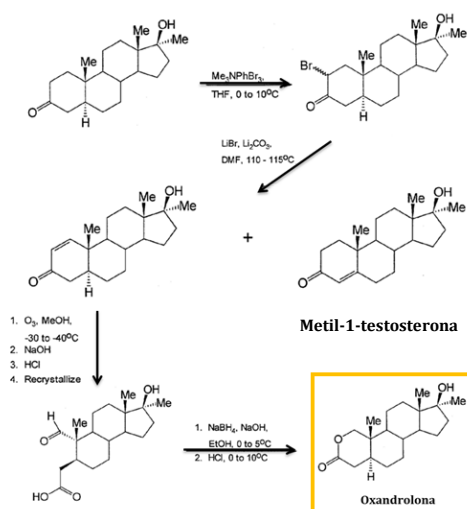


Fig. 1. Proceso de síntesis a gran escala de oxandrolona. Modificado de [12].

El fármaco del que hablamos está comercializado en EEUU, pero no es exclusivo de hombres, también puede ser utilizado por mujeres a dosis bajas, con poco riesgo de padecer rasgos masculinos [13]. Esta molécula estimula el desarrollo de los músculos tanto en hombres jóvenes como en los de edad avanzada [2], [13], produciendo una estimulación del crecimiento muscular y la reducción del tejido graso, permaneciendo esta menor cantidad de tejido graso incluso cuando se detiene el uso del fármaco. Sin embargo, el efecto acaecido sobre los músculos desaparece a las 12 semanas [10].

3. MECANISMO DE ACCIÓN DE OXANDROLONA

Oxandrolona es un esteroide anabólico sintético derivado de la testosterona, por lo que al unirse al receptor androgénico de los tejidos, revierte los procesos catabólicos y los balances negativos de nitrógeno, promoviendo el anabolismo de las proteínas y estimulando el apetito si hay una ingesta adecuada de grasas y proteínas [2].

El receptor androgénico es un factor de transcripción que se activa cuando el ligando se une a él. De esta manera regula la expresión génica en eucariotas, afectándose la proliferación celular y la diferenciación de los tejidos diana. La actividad de este receptor está modulada por el coactivador y las proteínas correpressoras, aunque la activación de la transcripción se regula negativamente por NR0B2 y se activa pero no se fosforila por HIPK3 y ZIPK/DAPK3 [14], [15]. El receptor se encuentra en el citoplasma, esperando a que se una su ligando, por lo que

una vez que se forma la estructura ligando-receptor, se dimeriza y fosforila para trasladarse al núcleo y unirse al ADN (Figura 2) [16].

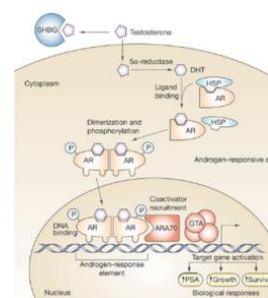


Fig 2. Proceso de activación del receptor androgénico tras la unión con testosterona. Utilizado para ilustrar el mecanismo de acción de la oxandrolona (análogo sintético de la testosterona) [16].

4. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS DE OXANDROLONA

4.1. Estudio farmacodinámico

La oxandrolona pertenece al grupo de esteroides anabólicos, derivados sintéticos de la testosterona. Está indicado como terapia adyuvante para promover el aumento de peso después de la pérdida del mismo o después de una cirugía extensa, infecciones crónicas o traumatismo severo, y en algunos pacientes que sin razones fisiopatológicas definidas, no logran ganar o mantener un peso normal para compensar el catabolismo proteico asociado con la administración prolongada de corticosteroides, y también, para el alivio del dolor óseo que con frecuencia acompaña a la osteoporosis [17], [18].

4.2. Estudio farmacocinético

Oxandrolona, una vez es administrada, se absorbe rápidamente, pero pasadas entre 0.5 y 1.5 horas, la concentración plasmática de esta molécula disminuye en dos fases (modelo bicompartimental). La corta vida media refleja la distribución del fármaco por el organismo, mientras que la larga se debe al metabolismo o eliminación de oxandrolona [19]. Un estudio farmacocinético con oxandrolona, administrada en una dosis única, en personas ancianas, presentaba una vida media de eliminación mayor que en personas jóvenes, sin embargo, no existían diferencias en cuanto al área bajo la curva (AUC) y la concentración plasmática máxima en ambos grupos [20]. Oxandrolona viaja por la sangre unida a proteínas y se metaboliza por el riñón, excretándose principalmente por orina en forma libre o formando conjugados, y en una pequeña proporción, por heces [19].

5. REACCIONES ADVERSAS

Las reacciones adversas (RAM) producidas por los esteroides anabólicos afectan a numerosos órganos y son dependientes del sexo [20].

En ambos sexos se afecta:

Hígado: de manera general puede producir ictericia con necrosis hepática y la muerte en raras ocasiones, neo-

plasmas hepatocelulares y peliosis hepática con terapia a largo plazo, cambios reversibles en la función hepática que influyen en el aumento de la retención de bromosulfotaleína (BSP), cambios en la fosfatasa alcalina y aumento en la bilirrubina sérica, aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT).

Sistema nervioso central: también se altera, provocando excitación, insomnio, depresión y cambios en la libido.

A nivel hematológico causa hemorragia en aquellos pacientes que toman anticoagulantes orales como tratamiento concomitante.

Piel y huesos: aumenta la secreción de sebo tanto en mujeres como hombres prepúberes y se produce un cierre prematuro de la epífisis en los niños.

Líquidos y electrolitos: se puede producir edema y retención de electrolitos en suero.

Sistema metabólico y endocrino: a este nivel disminuye la tolerancia a la glucosa, aumenta la excreción de creatinina y aumentan los niveles de la creatinina fosfoquinasa (CPK). Además, se puede producir la masculinización del feto y la inhibición de la secreción de gonadotropina.

Hombres: en la etapa prepuberal produce agrandamiento fálico con aumento de la frecuencia o persistencia de las erecciones. En la postpuberal, inhibición de la función y atrofia testicular, oligospermia, impotencia, priapismo crónico, epididimitis e irritabilidad de la vejiga.

Mujeres: se genera un agrandamiento del clítoris e irregularidades menstruales. Puede producir ginecomastia de las mamas, agravamiento de la voz, hirsutismo y calvicie.

6. OXANDROLONA EN TRATAMIENTO COMBINADO PARA PERSONAS CON TBSA

Las personas que presentan quemaduras graves se caracterizan por una respuesta cardiovascular y metabólica hiperdinámica. La respuesta hipermetabólica está caracterizada por un aumento en la tasa metabólica y un marcado catabolismo periférico, siendo la extensión de la respuesta metabólica directamente proporcional al tamaño de la quemadura. Esta modificación en el organismo causa un balance negativo de nitrógeno, intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. La respuesta hipermetabólica en quemados se asocia con un aumento del gasto energético y una liberación importante de las reservas de proteínas y grasa, y una continua proteólisis del músculo durante al menos 9 meses después de las graves lesiones [2], [4], [5], [19], [20]. Este daño en el organismo es, en primer lugar, revertido por un intento de actuación de las catecolaminas endógenas, pero es insuficiente, por lo que es necesario el uso de agentes farmacológicos que ayuden a acelerar el proceso inverso a la respuesta hipermetabólica. Los que han demostrado tener mejores resultados y los más costo-efectivos en este tratamiento han sido la insulina, propranolol y oxandrolona. Este último fármaco presenta menos efectos androgénicos que la testosterona, buenos resultados en la ganancia de peso de personas con quemaduras graves y mejora el metabolismo de las proteínas en niños gravemente quemados [2], la duración dependerá de la respuesta por parte del paciente y de la posible aparición de efectos adversos [20]. Un estudio

realizado en niños y adultos con TBSA tratados con oxandrolona ha demostrado que en la fase aguda de la enfermedad, los niños mejoraban el balance neto de proteínas, la masa magra corporal y la síntesis de proteínas del hígado; y durante la fase de rehabilitación también presentaban beneficios sobre la masa magra y recuperaban el crecimiento y la mineralización ósea durante más de un año. Además, disminuía los largos periodos de estancia hospitalaria de adultos y niños [22].

De la misma manera, otros fármacos como la hormona del crecimiento también supone un gran beneficio para la recuperación de niños gravemente quemados en cuanto al crecimiento y al aumento del músculo pero ocurría todo lo contrario en adultos, generando una mayor mortalidad en los mismos [23].

También propranolol ha demostrado ser el betabloqueante que mejor contrarresta la respuesta hipermetabólica inducida por las catecolaminas, ya que mediante un estudio ha demostrado que es capaz de disminuir la taquicardia inducida por las quemaduras graves, atenuar el catabolismo del músculo esquelético, reducir el gasto energético en reposos y disminuir el hipermetabolismo en niños gravemente quemados durante el proceso de hospitalización [24]. El uso de propranolol ha permitido que las personas con quemaduras severas reduzcan el trabajo que realiza el corazón, mejoren la masa corporal magra, aumenten el contenido mineral óseo y disminuyan la formación de cicatriz hipertrófica [23].

El ejercicio de resistencia influye en la obtención de un músculo fuerte y en la síntesis de proteínas musculares. Según algunos ensayos en personas con quemaduras, el ejercicio de resistencia durante la etapa de rehabilitación *per se* es capaz de inducir, en tan solo un año de prueba, aumentos en la masa magra, la fuerza muscular y la capacidad aeróbica de manera mucho más eficaz que con solo el tratamiento normal de cuidados [25].

Tras numerosos estudios y ensayos del uso de los agentes farmacológicos y el ejercicio de manera aislada o combinada, se concluye que la mejor estrategia de actuación para este tipo de personas es la combinación de un tratamiento farmacológico y no farmacológico [23], combinado como se observa en la Figura 3.

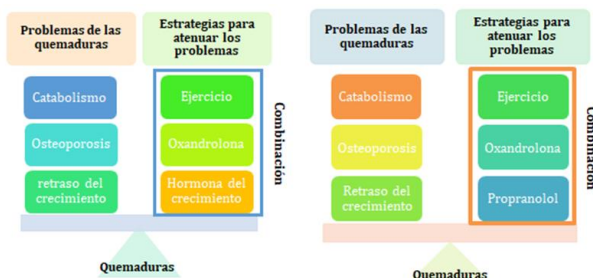


Fig. 3. Balance entre los problemas que presentan las quemaduras y las estrategias para abordarlas. A la izquierda, tratamiento combinado oxandrolona/GH + ejercicio. A la derecha, oxandrolona/propranolol + ejercicio. Modificado de [23].

CONCLUSIONES

Con la revisión realizada de oxandrolona usada para tratar a enfermos con quemaduras graves se concluye que,

es una opción de tratamiento, mejor para niños que para adultos con este tipo de patología, sin causar reacciones adversas graves. Además, reduce el tiempo de hospitalización de las personas que padecen esta enfermedad y disminuye el número de visitas de urgencia hospitalaria. A pesar de ello, si la terapia es combinada con otros fármacos como propranolol o la hormona del crecimiento y la realización de ejercicio, el proceso de recuperación de la enfermedad es mucho más rápido. Sin embargo, aún queda mucho por descubrir sobre este campo, ya que tomar una buena nutrición es otro factor a tener en cuenta en el desarrollo de un correcto tratamiento para personas con daño corporal por graves traumatismos.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial al profesor Francisco J. Araujo Rodríguez por su orientación a la hora de elegir el tema del artículo y al resto de profesores de la asignatura por enseñarme un mejor abordaje de la materia.

REFERENCIAS

- [1] O. A. Olawoye, A. O. Iyun, S. A. Ademola, A. I. Michael, and O. M. Oluwatosin, "Demographic characteristics and prognostic indicators of childhood burn in a developing country," *Burns*, vol. 40, no. 8, pp. 1794-1798, 2014.
- [2] K. D. Murphy, J. O. Lee, and D. N. Herndon, "Current pharmacotherapy for the treatment of severe burns," *Expert Opin. Pharmacother.*, vol. 4, no. 3, pp. 369-384, Mar. 2003.
- [3] A. Z. Linares and H. A. Linares, "Burn prevention: the need for a comprehensive approach," *Burns*, vol. 16, no. 4, pp. 281-285, 1990.
- [4] D. W. Hart et al., "Persistence of muscle catabolism after severe burn," *Surgery*, vol. 128, no. 2, pp. 312-319, Aug. 2000.
- [5] G. G. Gauglitz, C. C. Finnerty, F. N. Williams, and M. G. Jeschke, Chapter 30 - Modulation of the hypermetabolic response after burn injury, Fourth Edi. Elsevier Inc., 2012.
- [6] D. S. Goldstein and I. J. Kopin, "Evolution of concepts of stress," no. May, 2014.
- [7] F. N. Williams and D. N. Herndon, "Metabolic and Endocrine Considerations After Burn Injury," *Clin. Plast. Surg.*, vol. 44, no. 3, pp. 541-553, 2017.
- [8] C. G. Wermuth, "Selective optimization of side activities: The SOSA approach," *Drug Discov. Today*, vol. 11, no. 3-4, pp. 160-164, 2006.
- [9] C. Wu and J. R. Kovac, "Novel Uses for the Anabolic Androgenic Steroids Nandrolone and Oxandrolone in the Management of Male Health," *Curr. Urol. Rep.*, vol. 17, no. 10, pp. 1-7, 2016.
- [10] "21. The Real Anabolic Steroids", *Ergogenics.org*, 2008. [Online]. Available: <http://www.ergogenics.org/anabolenboek/index21en.html>. [Accessed: 26- May- 2018].
- [11] R. Pappo and C. Jung, "2-Oxasteroids: A new class of biologically active compounds," *Tetrahedron Lett.*, no. 9, pp. 365-371, 1962.
- [12] J. R. Holtman, P. A. Crooks, and H. K. Dhooper, "(12) Patent Application Publication (10) Pub . No . : US 2006 / 0222585 A1 Figure 1," vol. 002, no. 15, p. 354, 2015.
- [13] W. K. Neto et al., "Effects of testosterone on lean mass gain in elderly men: systematic review with meta-analysis of controlled and randomized studies," *Age (Omaha)*, vol. 37, no. 1, p. 5, Feb. 2015.
- [14] "Androgen receptor - DrugBank." [Online]. Available: <https://www.drugbank.ca/biodb/polypeptides/P10275>. [Accessed: 28-May-2018].
- [15] "AR - Androgen receptor - Homo sapiens (Human) - AR gene & protein", *Uniprot.org*, 2018. [Online]. Available: <http://www.uniprot.org/uniprot/P10275>. [Accessed: 28- May- 2018].
- [16] "Mechanism of action of testosterone - Molecular mechanisms of testosterone action." [Online]. Available: <http://yk.amazinghomes.me/pre-clinical-sarms/568-mechanism-of-action-of-testosterone.html>. [Accessed: 27-May-2018].
- [17] "Oxandrolone - DrugBank." [Online]. Available: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00621>. [Accessed: 28-May-2018].
- [18] "Oxandrolone. U S Food and Drug Administration", *Fda.gov*, 2009. [Online]. Available: <https://www.fda.gov/>. [Accessed: 27- May- 2018].
- [19] A. Karim, R. E. Ranney, J. Zagarella, and H. I. Maibach, "Oxandrolone disposition and metabolism in man," *Clin Pharmacol Ther*, vol. 14, no. 5, pp. 862-869, 1973.
- [20] "OXANDRIN-oxandrolone tablet," *Savient Pharmaceuticals, Inc.*, 2007. [Online]. Available: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=f622616e-4c11-4149-bf00-5ea5ce97800b>. [Accessed: 27-May-2018].
- [21] "Testosterone metabolism." [Online]. Available: [http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/pharmakologia/classes_stud/en/med/lik/ptn/Pharmacology/3year/11 Hormonal preparations of polypeptide structure.files/image008.jpg](http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/pharmakologia/classes_stud/en/med/lik/ptn/Pharmacology/3year/11%20Hormonal%20preparations%20of%20polypeptide%20structure.files/image008.jpg). [Accessed: 27-May-2018].
- [22] T. N. Pham et al., "Impact of oxandrolone treatment on acute outcomes after severe burn injury.," *J. Burn Care Res.*, vol. 29, no. 6, pp. 902-6, 2014.
- [23] O. E. Suman, C. C. Finnerty, and E. Borsheim, Chapter 49 - Mitigation of burn-induced hypermetabolic and catabolic response during convalescence, Fourth Edi. Elsevier Inc., 2012.
- [24] D. N. Herndon, D. W. Hart, S. E. Wolf, D. L. Chinkes, and R. R. Wolfe, "Reversal of catabolism by beta-blockade after severe burns.," *N. Engl. J. Med.*, vol. 345, no. 17, pp. 1223-9, Oct. 2001.
- [25] C. Porter, J. P. Hardee, D. N. Herndon, and O. E. Suman, "The Role of Exercise in the Rehabilitation of Patients with Severe Burns," 2015.



Pilar Ruda-Díaz recibió el título de Farmacéutica por la Universidad de Sevilla en 2017, y actualmente es estudiante del Máster en Biotecnología Sanitaria por la Universidad Pablo de Olavide.

Inmunoterapia contra la migraña

José López Gámez

Resumen— La migraña es una afección cerebral grave e incapacitante que provoca dolor de cabeza durante, acompañado de náuseas y/o vómitos, o fotofobia y fonofobia. Los fármacos disponibles actualmente para tratar la migraña no son específicos, es decir, están diseñados principalmente para otras indicaciones, por lo que pueden tener numerosos efectos secundarios y posibles interacciones con otros medicamentos. Por lo tanto, existe la necesidad de buscar nuevos tratamientos más eficaces y que estén diseñados expresamente para la migraña. Se ha demostrado que el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) juega un papel crucial en la fisiopatología de la migraña. En los últimos años, los agentes dirigidos a bloquear la actividad de CGRP, como los anticuerpos monoclonales, han adquirido una gran importancia como posible tratamiento preventivo de la afección. Recientemente, se han desarrollado y probado cuatro anticuerpos, que incluyen tres anticuerpos contra CGRP (Eptinezumab, Fremanezumab y Galcanezumab) y un anticuerpo contra el receptor CGRP, llamado Erenumab, el cual ha superado todos los estudios farmacocinéticos, convirtiéndolo en una posible terapia eficaz para la migraña.

Palabras Claves— Migraña, Inmunoterapia, CGRP, Anticuerpo, Erenumab.

1. INTRODUCCIÓN

La migraña es una afección cerebral grave e incapacitante, catalogada como el sexto trastorno más discapacitante a nivel mundial por la Organización Mundial de la Salud, y la más incapacitante de todos los trastornos neurológicos [1].

La International Headache Society define la migraña como un dolor de cabeza que dura de 4 a 72 horas y tiene al menos dos de las siguientes características: localización unilateral, calidad pulsátil, intensidad del dolor moderada a grave y agravamiento por el movimiento. Además, el dolor de cabeza debe ir acompañado de al menos uno de los dos síntomas siguientes: náuseas y/o vómitos, o fotofobia y fonofobia. La migraña es episódica, sin embargo, muchas personas con migraña experimentan cefaleas crónicas diarias que ocurren al menos 15 días al mes. La migraña casi siempre está precedida por una fase premonitoria que puede durar horas antes de que comience el dolor de cabeza. Los síntomas más comunes son fatiga, problemas gastrointestinales y cambios de humor, y estos pueden persistir durante todo el ataque de migraña. Alrededor del 20% de las personas con migraña también experimentan un aura, que consiste en trastornos visuales, sensoriales o motores. El dolor de cabeza suele ir seguido de una fase de recuperación o posdromo, que se caracteriza por fatiga y trastornos sensoriales continuados [2].

El tratamiento de esta afección neurológica tuvo un importante punto de inflexión a principios de la década de 1990 con el avance de los agonistas de los receptores de serotonina 5-HT_{1B} / 1D, conocidos como "triptanos", una clase de medicamento para abortar el dolor y muchos de los síntomas asociados de migraña. Sin embargo, los riesgos cardiovasculares asociados continúan limitando su uso, y una cantidad significativa de pacientes aún no

puede responder a este enfoque, lo que respalda la necesidad urgente de nuevas opciones terapéuticas [3].

Las opciones actuales disponibles para la profilaxis incluyen un rango variable de fármacos, como bloqueadores de los canales de calcio (Flunarizina y Cinarizina), betabloqueantes (Propranolol), antidepresivos tricíclicos (Amitriptilina) o anticonvulsivos. La gran mayoría de estos fármacos son, sin embargo, no específicos, es decir, diseñados principalmente para otras indicaciones, y en administración prolongada, como se requiere para prevención de la migraña, puede tener numerosos efectos secundarios y posibles interacciones con otros medicamentos [3][4]. Por lo tanto, existe la necesidad de buscar nuevos tratamientos más eficaces y que estén diseñados expresamente para la migraña.

Se ha demostrado que el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) juega un papel crucial en la fisiopatología de la migraña. En los últimos años, los agentes dirigidos a bloquear la actividad de CGRP, tales como los antagonistas del receptor de CGRP o los anticuerpos monoclonales (mAbs), han adquirido así una gran importancia como posible tratamiento preventivo de la afección [4].

2. LA MIGRAÑA Y EL PÉPTIDO RELACIONADO CON EL GEN DE LA CALCITONINA (CGRP)

2.1. La molécula CGRP

CGRP, un potente vasodilatador, es un neurotransmisor peptídico que se produce en las neuronas sensoriales periféricas y en numerosos sitios a lo largo del Sistema Nervioso Central (SNC). Es miembro de la familia de los péptidos calcitonina, la cual comprende calcitonina, amilina, dos CGRP y adrenomedulina. CGRP existe en dos formas, α -CGRP y β -CGRP, pero β -CGRP se ha estudiado relativamente poco. La forma α -CGRP, a partir de ahora mencionada como CGRP, es un péptido de 37 aminoácidos (Fig. 1A), que se expresa en las neuronas de ganglios

trigeminales resultante del corte y empalme alternativo del gen de calcitonina/CGRP localizado en el cromosoma 11. β -CGRP difiere en tres aminoácidos en humanos. Se encuentra principalmente en las neuronas entéricas intrínsecas y la glándula pituitaria, y posiblemente está involucrado en los problemas gastrointestinales asociados con la migraña [3][5].

Este péptido ejerce una amplia variedad de efectos biológicos sobre diversos tejidos, incluidos los músculos cardiovasculares, lisos y esqueléticos, y los sistemas endocrino y gastrointestinal a través de la activación de receptores de membrana específicos, por lo que es muy importante estar al tanto de estas contribuciones sistémicas, ya que la administración de antagonistas puede afectar la función de CGRP fuera del sistema nervioso [3].

En el SNC, CGRP está involucrado en la modulación del dolor, la percepción y la sensibilización central. La inflamación neurogénica participa en la sensibilización periférica y CGRP participa en todo el proceso, gracias a su propiedad vasodilatadora y su capacidad de aumentar la liberación de la sustancia P (involucrada en la percepción del dolor), que induce la extravasación plasmática. Otro mecanismo mediante el cual el péptido contribuye al fenómeno es mediante la desgranulación de mastocitos que produce la liberación de varias sustancias inflamatorias y proinflamatorias. Al unirse a sus receptores gliales, CGRP promueve además la liberación de citoquinas en los ganglios del trigémino y el nervio, lo que a su vez produce la sensibilización de las neuronas sensoriales. El CGRP también parece estar implicado en otros fenómenos relacionados con la migraña, como la fotofobia y síntomas gastrointestinales [3][4].

CGRP se ha convertido en un objetivo interesante para los compuestos dedicados al control de la migraña.

2.2. El receptor de CGRP

El receptor de CGRP pertenece a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G. Es un complejo de varias proteínas, cada una de las cuales es necesaria para la especificidad del ligando y la función del receptor (Fig. 1B). Está compuesto por un receptor acoplado a proteína G conocido como receptor similar a calcitonina (CALCRL), una proteína componente de receptor (RCP) que define la proteína G a la que se acopla el receptor, y una proteína con un solo dominio transmembrana llamada proteína modificadora de la actividad del receptor (RAMP1). El dominio de unión al ligando del receptor de CGRP se encuentra en la interfaz entre RAMP1 y CALCRL. Por lo tanto, la coexpresión de CALCRL y RAMP1 es necesaria para que una célula responda a CGRP [3][5].

CALCRL está acoplado a una proteína G que contiene la subunidad $G\alpha_s$, que al estimularse el receptor de CGRP, activa la adenilil ciclasa y las vías de señalización dependientes de adenosín monofosfato cíclico (cAMP). La RCP asociada al receptor, amplifica la activación de la proteína G, siendo importante para la transducción de una señal óptima. El aumento de cAMP intracelular mediado por el receptor, activa la proteína quinasa A (PKA), lo que da como resultado la fosforilación de múltiples

objetivos aguas abajo, incluyendo canales de ATP sensibles al potasio (canales KATP), quinasas relacionadas con señal extracelular (ERK) y factores de transcripción como proteínas de unión sensibles a cAMP (CREB). En el músculo liso cerebrovascular (Fig. 2), la elevación de cAMP tras la activación de CGRP da como resultado la vaso-relajación y la dilatación del vaso sanguíneo [5].

Una característica importante de la señalización de CGRP es la regulación y desensibilización del receptor después de su activación por un agonista. Después de que CGRP se une a su receptor, CALCRL se fosforila rápidamente, lo que lleva a la internalización del receptor mediante el reclutamiento de β -arrestinas. La estimulación transitoria por CGRP induce la internalización del receptor a los endosomas, desde donde el receptor puede reciclarse rápidamente a la membrana plasmática. La exposición crónica a CGRP inicia un proceso de internalización que transmite el receptor a los lisosomas para su degradación [5].

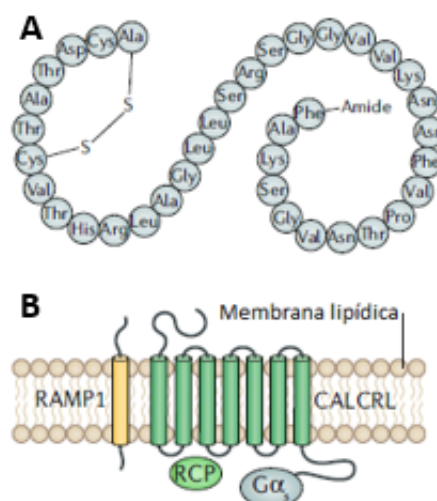


Fig. 1. (A) Estructura de aminoácidos del péptido relacionado con el gen de la calcitonina de tipo α humano (CGRP). Contiene un puente disulfuro N-terminal, una α -hélice y una fenilalanilamida C-terminal. (B) Representación del complejo del receptor CGRP, que consiste en dos proteínas de membrana integrales del receptor tipo calcitonina (CALCRL) y la proteína modificadora de la actividad del receptor 1 (RAMP1) y dos proteínas citoplasmáticas, proteína de acoplamiento del receptor (RCP) y la subunidad α de la proteína GS ($G\alpha_s$). Imagen tomada y modificada de [5].

3. TRATAMIENTO CON ANTICUERPOS MONOCLONALES

Anteriormente, los tratamientos se basaban en antagonistas de moléculas pequeñas que bloqueaban de forma potente y selectiva las respuestas de CGRP. Estas moléculas no están químicamente relacionadas entre sí, pero tienen un modo de acción compartido, por lo que se les conoce como gepants. Todos los gepants que se han estudiado son eficaces, sin embargo, el desarrollo clínico de estos gepants se terminó debido a que podían causar toxicidad hepática con su uso a largo plazo [5].

Una alternativa a estos gepants es el uso de anticuerpos monoclonales (mAb) selectivos que se unen a CGRP o al receptor de CGRP, con el objetivo de reducir el número

de días de migraña de los pacientes que tienen ataques frecuentes. Los mAbs son adecuados para el tratamiento de la migraña ya que tienen una serie de ventajas con respecto a otros tratamientos. Los anticuerpos tienen una semivida sérica prolongada, lo que significa que los pacientes pueden tomar la medicación con poca frecuencia. Además, gracias a su alta afinidad y selectividad, reducen efectos secundarios. A diferencia de los gepants, los anticuerpos no causan toxicidad hepática, ya que el hígado no procesa los anticuerpos [5].

Recientemente, se han desarrollado y probado cuatro anticuerpos, que incluyen tres anticuerpos contra CGRP y un anticuerpo contra el receptor CGRP (Fig. 2). Los tres anticuerpos monoclonales dirigidos a CGRP en sí son Eptinezumab, Fremanezumab y Galcanezumab. Eptinezumab es un anticuerpo monoclonal de inmunoglobulina G1 (IgG1) humanizado diseñado genéticamente que se administra de forma intravenosa y está destinado para una dosificación de una vez cada 3 meses. Fremanezumab es un anticuerpo monoclonal IgG2a completamente humanizado que se administra una vez al mes mediante inyección subcutánea. Galcanezumab es un anticuerpo monoclonal IgG4 totalmente humanizado que también se administra por vía subcutánea mensualmente [5][6].

El anticuerpo anti-receptor de CGRP es Erenumab, un anticuerpo monoclonal humano de IgG2 dirigido al sitio de unión de CGRP. El anticuerpo se administra una vez al mes por inyección subcutánea [5][6].

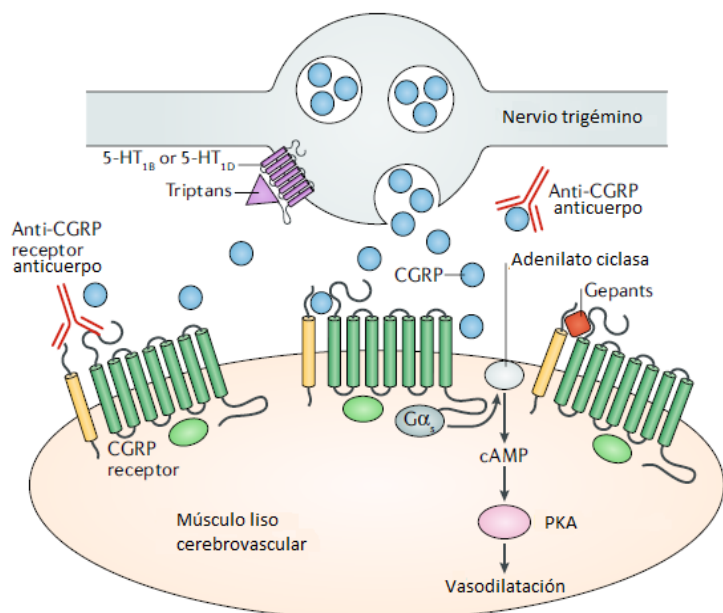


Fig. 2. Mecanismo de acción de CGRP al unirse con su receptor y las diferentes terapias contra la migraña. El nervio trigémino que inerva a una célula de músculo liso cerebrovascular libera CGRP, el cual interacciona con los receptores de la célula muscular. Imagen tomada y modificada de [5].

Las características ideales de un mAb dirigido al receptor para CGRP se basan en varias consideraciones. En primer lugar, el sitio de unión de CGRP sobre el receptor formado por el complejo CRLR-RAMP1, es amplio, por lo que el bloqueo más eficaz se puede lograr mediante un anticuerpo capaz de abarcar la distancia entre estas

subunidades del receptor. En segundo lugar, dado que el complejo receptor de CGRP comparte similitudes con otros receptores de la familia, es esencial que su bloqueo sea altamente selectivo para evitar los efectos secundarios relacionados con el bloqueo de los otros receptores. Además, una vida media en suero prolongada del anticuerpo es clave para permitir la administración a los pacientes de un tratamiento preventivo a intervalos de tiempo relativamente largos, lo que mejora el cumplimiento de los pacientes. Tras realizar estudios farmacocinéticos, se ha confirmado que Erenumab cumple todos estos requisitos, convirtiéndolo en una terapia eficaz para la migraña [4].

Tras completarse los ensayos clínicos de Fase III para los cuatro mAb, se ha demostrado que disminuyen con éxito el número de días de migraña. El anticuerpo anti-receptor de CGRP, Erenumab, se encuentra actualmente en evaluación por la Food and Drug Administration (FDA) y la Agencia Europea de Medicamentos, de modo que si tiene éxito, se espera que el medicamento se comercialice en 2018 [5].

4. CONCLUSIONES

La migraña es un trastorno neurológico muy complejo, por lo que CGRP no puede ser indicado como único responsable de su génesis, aun así este péptido es un importante contribuyente. Con el desarrollo de los anticuerpos monoclonales contra CGRP y su receptor, hemos entrado en una nueva era para el tratamiento de la migraña, la cual desplaza a otros tratamientos como los triptanos. Los cuatro mAbs que se dirigen a la ruta CGRP, están demostrando en los ensayos clínicos de Fase III que presentan la misma o incluso una mejor eficacia que los tratamientos anteriores. Por lo tanto, los mAbs parecen especialmente adecuados para el tratamiento preventivo de la migraña.

A pesar de que Erenumab, anticuerpo contra el receptor de CGRP, es el que está más próximo a la entrada al mercado, seguimos planteándonos cuestiones que están sin resolver, como por ejemplo: ¿el tratamiento a largo plazo con mAbs ofrece seguridad cardiovascular?, si los pacientes que no responden a un mAb ¿tienen acceso a los otros? De este modo, se deberían realizar estudios futuros para dilucidar estas cuestiones y así mejorar el tratamiento contra la migraña.

REFERENCIAS

- [1] P. J. Goadsby, P. R. Holland, M. Martins-Oliveira, J. Hoffmann, C. Schankin, and S. Akerman, "Pathophysiology of Migraine: A Disorder of Sensory Processing", *Physiol. Rev.*, vol. 97, no. 2, pp. 553–622, 2017.
- [2] A. F. Russo, "Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP): A New Target for Migraine", *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, vol. 55, no. 1, pp. 533–552, 2015.
- [3] S. Wrobel Goldberg and S. D. Silberstein, "Targeting CGRP: A New Era for Migraine Treatment", *CNS Drugs*, vol. 29, no. 6, pp. 443–452, 2015.
- [4] M. A. Giamberardino, G. Affaitati, R. Costantini, F. Cipollone, and P. Martelletti, "Calcitonin Gene-Related peptide receptor as

a novel target for the management of people with episodic migraine: Current evidence and safety profile of erenumab," *J. Pain Res.*, vol. 10, pp. 2751–2760, 2017.

- [5] L. Edvinsson, K. Haanes, K. Warfvinge and D. Krause, "CGRP as the target of new migraine therapies — successful translation from bench to clinic", *Nature Reviews Neurology*, vol. 14, no. 6, pp. 338-350, 2018.
- [6] K. Paemeleire and A. MaassenVanDenBrink, "Calcitonin-gene-related peptide pathway mAbs and migraine prevention", *Curr. Opin. Neurol.*, p. 1, 2018.



José López Gámez recibió el título de Graduado en Biotecnología por la Universidad de Cádiz en 2017. Actualmente es estudiante del Máster en Biotecnología Sanitaria por la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

¿Puedo estimar la edad de un fósil por el carbono-14?

Margarita Ruiz López

Resumen—Los organismos presentan en su cuerpo el isótopo carbono-14 por la ingesta de plantas o de animales que han ingestado plantas, esta cantidad presente en el organismo será similar a la cantidad de carbono-14 presente en la atmósfera, esto es indispensable para la datación por carbono-14 (desarrollado por Willard Libby), dado que este método compara la cantidad de carbono-14 presente en el fósil al tiempo de encontrarlo con la cantidad de carbono-14 que en el momento de morir tenía el cuerpo, y con ello es posible determinar el tiempo que hace que murió el organismo.

Palabras Claves— Carbono-14, Datación, Isótopo, Libby, Técnicas.



1. INTRODUCCIÓN

Los organismos vivos surgen aproximadamente hace unos 3000 a 3500 millones de años, si bien toda materia viva está formada indudablemente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, estos cuatro elementos representan el 98% de la masa total de una célula[1].

El presente artículo se centrará en un isótopo del carbono, el carbono-14, éste fue descubierto en 1940 por Martin Kamen y Sam Ruben. Su núcleo se compone por 6 protones y 8 neutrones. Nueve años más tarde a éste descubrimiento, 1949, el estadounidense Williard Libby desarrolla un método de datación basado en el carbono-14 que nos permitiría saber con gran exactitud la fecha de origen de restos orgánicos, y por tanto podría darse respuestas a cuestiones tales como ¿qué edad tienen los fósiles?. En 1960 Williard Libby ganó el Premio Nobel de Química, por el desarrollo de esta técnica.

El desarrollo y empleo de esta técnica es de gran embergadura, pues con ella se ha podido reubicar y concretar cronológicamente acontecimientos importantes en la historia, así ocurrió en la cueva del Sidrón, Asturias, la cual posee un gran yacimiento de restos humanos neandertales. Estos restos fueron de gran ayuda para los paleontólogos, para así establecer cuando se produjo la transición de neandertales a sapiens en Europa. Anteriormente se realizaron dataciones sobre tal transición, si bien los paleontólogos llegaron a conclusiones erróneas pues llegaron a concretar una antigüedad de solo 10.000 años, sin embargo y gracias al método de datación carbono-14 el Laboratorio de Ciencias del Clima y del Medioambiente francés y la Unidad de Acelerador de Radiocarbono de Oxford se situó a los neandertales de el Sidrón hace 49.000 años [2].

2. EL CARBONO

El carbono es un elemento químico de número atómico 6 y símbolo C presente en la naturaleza. El estudio de los

compuestos de carbono se denomina química orgánica.

El carbono tiene tres isótopos: carbono-12 (6 protones y 6 neutrones), carbono-13 (6 protones y 7 neutrones) y carbono-14 (6 protones y 8 neutrones). Los isótopos de un elemento químico son las variedades en las que se suelen presentar sus átomos, así, estos elementos en sus respectivos núcleos tendrán el mismo número de protones (6) pero diferente número de neutrones, ello hace que tengan una masa atómica diferente entre ellos [3].

2.1. El carbono-14

El Carbono-14 es un isótopo de carbono débilmente radioactivo, se conoce también como radiocarbono, su masa atómica es 14.003 241 u. Este isótopo a diferencia del carbono-12 y del carbono-13 es inestable. El carbono-14 tiene origen en la parte superior de la atmósfera, a partir del nitrógeno, esto sucede como consecuencia del choque de neutrones cósmicos (es decir neutrones que forman parte de la radiación cósmica galáctica) sobre otros átomos atmosféricos de nitrógeno, esta reacción y producción de carbono-14 es máxima aproximadamente a unos 15 kilómetros de altura. Los átomos de carbono-14 se oxidan dando lugar a CO₂ y se mezclan con el resto de CO₂ por toda la atmósfera. Si bien, es cierto que a su vez el carbono-14 va transformándose poco a poco en nitrógeno [3].

Una de las diferencias con respecto a los otros dos isótopos del carbono es el tiempo de desintegración, dado que dependiendo del isótopo esto sucede con mayor o menor rapidez. En concreto el carbono-14 tiene un período de semidesintegración (esto quiere decir el tiempo necesario para que se desintegren la mitad de los núcleos de una muestra inicial de una sustancia radiactiva [4]) de aproximadamente 5760 años [5]. Con ello se quiere decir que si se tiene X cantidad de carbono-14, cuando transcurran aproximadamente 5760 años, se tendrá X/2 carbono-14, el carbono-14 que falta habrá pasado a ser nitrógeno.

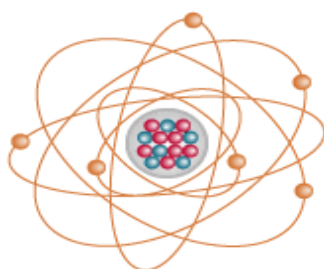


Figura 1: Carbono-14

3. DATACIÓN POR CARBONO-14

Se trata de una técnica basada en el isótopo del carbono, carbono 14, con la que se determinará la edad de los fósiles según la cantidad de carbono-14 que quede en tal cuerpo. Esta técnica es la más fiable para conocer la edad de muestras orgánicas de menos de 60.000 años. [6]

Como anteriormente se ha mencionado el carbono-14 se encuentra en la atmósfera, y éste es asimilado por las plantas durante la fotosíntesis, dado que absorben CO₂ y el cual está mezclado con carbono-14, de tal forma, que por la ingesta de las mismas o de seres que comen plantas, el carbono-14 también estará presente en los animales, es decir el carbono-14 estará presente en todos los organismos debido a la cadena trófica, no obstante, tras la muerte de un organismo vivo ya no se absorberá más carbono-14, y el presente en el organismo comenzará lentamente a transformarse en nitrógeno [7].

3.1. Cálculo cantidad carbono- 14

Para saber la antigüedad estimada de un fósil es necesario saber cuanto carbono-14 queda en el cuerpo, para ello se utiliza la siguiente fórmula:

$$t = \frac{T_{1/2}}{-\ln 2} \cdot \ln \left(\frac{N_f}{N_0} \right)$$

Donde T es el tiempo de semidesintegración del carbono-14, t es el tiempo que se estima de la antigüedad del fósil, N_f es la cantidad de carbono-14 final del fósil (cuando se encuentra el fósil), y finalmente N₀ es la cantidad original de carbono-14 en el cuerpo, esto es la cantidad de carbono-14 que había en el cuerpo al morir el mismo, esta cantidad se conoce porque debiera de coincidir con la cantidad de carbono-14 presente en la atmósfera al momento de morir el organismo, para saber esto último se utiliza los anillos de árboles antiguos, es lo que se conoce como dendrocronología [5].

3.2. Técnicas principales de medición carbono-14

A.- Recuento proporcional de gas

Este es el método que desarrolló Willard Libby y con el que obtuvo el premio nobel en Química. Consiste en quemar la muestra, de tal forma que el carbono presente en la misma, pasa a ser CO₂, tras ello y una vez purificado el CO₂ se introduce en un "contador proporcional" que contará el número de electrones que emite la muestra, ello

es producto del decaimiento del radiocarbono (C14). Así pues, primero se convertirá la muestra de carbono en CO₂ y tras ello se realizará la medición en contadores de gas proporcional. Gracias a ello, se puede determinar la cantidad de carbono-14 que había presente en la muestra y con ello determinar cuánto tiempo ha pasado desde la muerte del organismo. Este método consigue dataciones con un error aproximado de +/- 200 años [8].



Figura 3: Contador proporcional (Geiger-Müller)[9]

B.- Recuento de centelleo líquido

En esta técnica la muestra se introduce en benceno ("Hidrocarburo líquido, de estructura en forma de anillo y con seis átomos de carbono, aromático, incoloro e inflamable, de amplia utilización como disolvente y como reactivo en operaciones de laboratorio v usos industriales" [10]). Esta técnica utiliza muestras líquidas, las cuales son más fáciles de manejar que las sólidas o gaseosas. es por ello que introducimos nuestra muestra en benceno, para transformarla en líquido. Una vez hecho esto se coge una muestra y se pasa entre dos fotomultiplicadores, y cuando ambos dispositivos registran el destello de luz, se realiza el recuento. Se utiliza un líquido que emite centellos de luz al recibir los electrones resultantes de la desintegración del carbono-14 [8].



Figura 3: Contador de centelleo [9]

C.- Espectrometría de masas con aceleradores

Este método (A.M.S) es considerado el más eficiente para medir la cantidad de radiocarbono presente en una muestra, pues mide directamente la cantidad de átomos de carbono-14, y no la desintegración de los mismos. Con este método se reduce el margen de error +/- 40 años, además para esta técnica será suficiente pequeñas cantidades de la muestra [11].

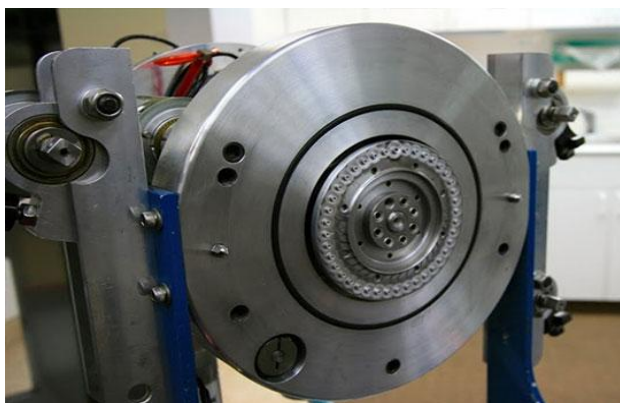


Figura 4: Espectrómetro de masas con aceleradores [11]

Si bien antes de llevar a cabo esta técnica en el laboratorio es necesario en primer lugar que se observe la muestra microscópicamente para que en el caso de que hubiese diferentes compuestos orgánicos poder separarlo. Tras ello y si es necesario se realiza una limpieza para eliminar restos de conservantes y colorantes que pudiese contener la muestra. Una vez realizado esto se seca y pesa la muestra en miligramos, posteriormente se sella la muestra con óxido de cobre (II) (CuO) y plata (Ag) bajo vacío, se produce la combustión de la muestra y se producirá la transformación de la misma a CO₂. Una vez terminado este proceso se transforma el CO₂ a grafito y se prensa la muestra, y con ello ya estaría lista para ser medida por A.M.S.

4. CONCLUSIONES

La determinación de la edad de fósiles o cuerpos supone un gran avance en la química forense, pues con el método de datación por carbono-14 es posible situar en el tiempo los cuerpos hallados, y no solo para la química forense, pues también es de gran relevancia para otras ramas como la arqueología, dado que gracias al desarrollo de este método se han podido concretar numerosos acontecimientos históricos.

Si bien, el empleo de este método genera dificultades tales como que puede que la cantidad de carbono-14 presente en la atmósfera no coincida con la que había cuando murió el organismo, además es posible que el fósil en cuestión haya sufrido alteraciones o esté contaminado.

No obstante, la datación de carbono-14 es la más usada en la actualidad, pues los resultados que se obtienen de ella son bastante concretos, si bien señalar que no podría aplicarse en aquellas muestras que tengan un período superior a 50.000 años, pues en ellas ya no quedaría carbono-14.

REFERENCIAS

- [1] Sánchez Rodrigo, Adolfo : "El átomo central: el carbono" *Lección Inaugural* , pp. 9-16, Universidad de Jaén, 2001/02
- [2] "Los neandertales de la cueva de El Sidrón vivieron hace 49.000 años" Periódico El Mundo, marzo 2013

<http://www.elmundo.es/elmundo/2013/03/27/ciencia/1364380765.html>

- [3] Caro Alonso- Rodríguez, A.J y Cano González, F. : "Trabajo datación carbono 14", Universidad Castilla la Mancha. pp. 3-7
- [4] "SEMIDESINTEGRACIÓN." Def. 1. *Química Enciclopedia*. Web. Último acceso 3 de diciembre de 2017. http://www.quimica.es/enciclopedia/Periodo_de_semidesintegraci%C3%B3n.html
- [5] Fabregas Valcarce Ramon, "¿« Tercera revolución del radiocarbono»? , Una perspectiva arqueológica del C-14" , Boletín del Seminario de Estudios de Arte y Arqueología: BSAA, ISSN 0210-9573, Tomo 58, 1992, págs, 9-24.
- [6] BOLETÍN DE MATEMÁTICAS DEL I.E.S MATARRAÑA, número 11 : "Carbono, fósiles y logaritmos" , noviembre 2009.
- [7] Bañón David: "¿ Cómo funciona la datación por carbono 14?, último acceso 3/12/2017 <https://www.vix.com/es/btg/curiosidades/4547/como-funciona-la-datacion-por-carbono-14>
- [8] Beta Analytic, laboratorio Miami, FL USA 33155 : "Datación por radiocarbono: una introducción". Web. Último acceso 4/12/2017 <https://www.radiocarbon.com/espanol/sobre-carbono-datacion.htm>
- [9] Imagen extraída web. Acceso 2/12/2017 <http://biomodel.uah.es/tecnicas/isotopos/inicio.htm>
- [10] "BENCENO". *Diccionario de la Real Academia Española*. 2017. Web. Último acceso 7/12/2017. <http://www.rae.es/>
- [11] Beta Analytic, laboratorio Miami, FL USA 33155: "La espectrometría de masas con aceleradores en la datación radiocarbónica" Web. Último acceso 4/12/2017 <https://www.radiocarbon.com/espanol/acelerador-masa-espectrometria.htm>



Margarita Ruiz López, estudiante de 5º curso del Doble Grado Derecho y Criminología en la Universidad Pablo de Olavide

El cobre como veneno

Salud Ruiz Moreno

Resumen— El cobre es un mineral que se encuentra presente en nuestro entorno, ya sea por sus usos en la electricidad, en la comunicación, etc., o ya sea por su presencia en determinados alimentos y bebidas que hacen que nuestro organismo posea restos de cobre que son necesarios para la vida. No obstante, este mineral puede llegar a ser peligroso cuando se encuentra en exceso en los seres vivos, cuyas manifestaciones son muy variadas según el grado de toxicidad.

Palabras Claves—Bovinos, Cobre, Oligoelemento, Toxicidad, Wilson.



1. INTRODUCCIÓN

Los primeros hallazgos del cobre se remontan a la Edad de Piedra (9500 a.C.) en lo que sería el actual Oriente Medio, con un uso decorativo, adornando broches y perlas con partículas de dicho mineral. Su explotación se desarrolló lentamente, mejorando su extracción y tratamiento en la Edad del Bronce, en la cual comienza a desarrollarse el arte de la fundición para separar sulfuros y óxidos del mineral de cobre en Asia Menor. No obstante, debemos resaltar la gran importancia que tuvo en esta época Egipto, donde se explotaban varias minas en la península de Sinaí entre 3.200 y 1.160 a.C., luego se procesaba el cobre, comenzándose a fabricar objetos hechos con tal metal para su posterior comercialización [1].

Los grandes yacimientos de este mineral se encontraron en la isla de Chipre, la cual proporcionaba cobre a los pueblos del Mediterráneo oriental. Fue tan importante Chipre que la palabra "cobre" proviene del latín *cuprum* y ésta a su vez de *aes cypriu*, la cual significa "de Chipre" [1].

En la Antigua Roma este mineral tuvo gran importancia ya que era usado como un tipo de cambio. A finales del siglo III a.C. se extendió el uso de lingotes de bronce (aleación de cobre y estaño) con diversos marcados, los cuales servían para verificar la pureza del metal y el peso del lingote. Más tarde, se introdujeron las monedas de oro, plata y cobre [1].

En la Edad Media se usó mucho como joyería y objetos de uso cotidiano y a partir del siglo III la metalurgia se convirtió en un campo de experimentación en el ámbito de la química, descubriéndose varios usos para sulfatos de metales nobles. Por último, en la Edad Moderna el cobre tuvo gran importancia, ya que fue un material esencial en la industria moderna por su utilidad en la corriente eléctrica [1].

2. ¿QUÉ ES EL COBRE?

El cobre es un metal que ha sido muy usado tanto por su fácil obtención como por sus propiedades físico-químicas, siendo algunos de sus datos característicos los siguientes: su color cuando es puro es rosa salmón, su número atómico es el 29 y su peso atómico es el 63,546. Su

punto de fusión se encuentra a 1356 K y de ebullición a 2868 K, por lo que le hace ser un buen conductor de electricidad [2].

En la actualidad, este mineral se encuentra generalizado en muchos sectores, los usos del mismo según el grado de importancia (orden decreciente) son los siguientes: manufacturas eléctricas, teléfono y telégrafo, conducciones de energía eléctrica, alambre, automóviles, construcción, colado, municiones, ferrocarriles, refrigeradores, construcción de barcos, aires acondicionados [3].

Por lo que observamos, el cobre se encuentra prácticamente en nuestra vida diaria, no obstante, las mencionadas no son las únicas formas de contacto con el mismo que posee la especie humana. Este mineral forma parte de aleaciones de alimentos como ostras, nueces, mariscos... y del agua potable, tratándose de un oligoelemento esencial para la vida humana ya que contribuye a la formación de glóbulos rojos y al mantenimiento de los sistemas circulatorio, nervioso, inmunitario y óseo [4].

No obstante, ¿puede llegar a ser un metal como el cobre peligroso para los seres vivos? La respuesta a esta pregunta es sí, puesto que cantidades altas de este mineral en nuestro organismo pueden llegar a ser dañinas para la salud.

Otra de las formas en la cual el cobre puede llegar a ser peligroso es el acetiluro de cobre, que ha sido la causa de explosiones en fábricas de acetileno, por lo que el cobre ha sido eliminado para la construcción de dichas fábricas [5].

3. TIPOS DE TOXICIDAD DEL COBRE

El cobre puede llegar a tener varios grados de toxicidad según los efectos que produce en el organismo, en concreto nos encontramos con tres grados: toxicidad inducida, toxicidad aguda y toxicidad crónica.

3.1. Toxicidad inducida

Cuando se produce una toxicidad inducida, las sales de cobre se liberan de una forma rápida debido a la inducción al vómito que provoca. Este tipo de toxicidad puede tener su origen por varias causas:

-En la India las sales de cobre se utilizan con fines terapéuticos por vía oral.

-Una parte del cobre disuelto en las conexiones utilizadas en los equipos de hemodiálisis puede llegar a ser retenida por los pacientes.

- El pienso utilizado para el ganado y aves de corral puede tener añadido cobre, el cual se concentra en el hígado de los animales, posteriormente cuando los humanos lo ingieren puede producir un aumento de este mineral en nuestro organismo. Este mismo proceso puede observarse en el uso de estiércol con cobre añadido para cultivar verduras y otros alimentos que van a ser ingeridos con posterioridad [5].

4.2. Toxicidad aguda

La toxicidad aguda comprende todos aquellos casos cuyos efectos son más graves que un simple vómito, en los cuales la eliminación del exceso de cobre es más complicada.

El primer caso que nos encontramos es la ingesta de sulfato de cobre (conocido como piedra azul o azul citriolo), el cual puede producir, en cantidades de gramos, náuseas, vómitos, sudoración, hemólisis intravascular (disminución de glóbulos rojos sanguíneos) y posible fallo renal. En casos extremos puede producir convulsiones, coma e incluso la muerte [5].

En segundo lugar, la ingesta de aguas carbonatadas o zumos cítricos que han estado en contacto con cañerías, grifos o válvulas de cobre puede producir irritación del tracto gastrointestinal [5].

Las tuberías de cobre (cada vez menos utilizadas) provocan que este mineral se disuelva en el agua, y en algunas ocasiones, cuando existen altas concentraciones del mismo, pueden ocasionar la muerte de la colonia bacteriana de nuestros filtros, y más tarde, si este agua es utilizada en peceras o para el riego puede llegar a provocar la muerte de peces y plantas. Los efectos tóxicos del cobre son más fuertes cuanto más ácida y blanda sea el agua [6].

En tercer lugar, en ocasiones se ha utilizado el cobre para tratar quemaduras, lo que ha provocado que existan altas concentraciones de cobre sérico y manifestaciones tóxicas [5].

Por último, la inhalación de polvos, humos o nieblas de sales de cobre puede producir congestión nasal y de las mucosas, ulceración con perforación del tabique nasal. También, los humos que se producen durante el calentamiento del cobre metálico pueden producir fiebre, náuseas, gastralgias y diarrea [4]. Este tipo de toxicidad se encuentra presente en la industria del cobre, en la cual sus trabajadores presentan varias enfermedades debidas al trato con el mineral, entre las que nos encontramos, el cáncer de pulmón y la neumoconiosis. En el siguiente gráfico se presentan las enfermedades que se producen dentro de la industria del cobre y su frecuencia:



Gráfico 1. Enfermedades profesionales en la Industria del Cobre [7]

4.3. Toxicidad crónica

Con respecto a la toxicidad crónica, existen personas que acumulan cobre en su organismo debido a una enfermedad llamada Wilson. Se trata de una enfermedad hereditaria, autosómica y recesiva. El gen relacionado con dicha enfermedad es el ATP7B que se encuentra en el cromosoma 13. Nos encontramos ante una enfermedad rara que afecta aproximadamente a 30 personas por cada millón de habitantes y se estima que en España existen alrededor de 200 casos, esto hace, junto a otras complicaciones, que su diagnóstico sea complicado [8].

Para observar la importancia de esta enfermedad vamos a analizar las concentraciones de cobre en organismos que no la presentan. En primer lugar, una persona ingiere al día entre 1 y 3 mg de cobre, los cuales apenas se retienen en el organismo, absorbiéndose sólo entre el 10 y el 50%. Una persona adulta presenta en su organismo entre los 50 y 150 mg, estando presente casi todo como parte integrante y funcional de proteínas y sistemas enzimáticos, como podría ser el citocromo oxidasa, la dopa-oxidasa y la ceruloplasmina sérica. Podemos observar como en personas que comen alimentos ricos en cobre como mariscos, setas, nueces o chocolate durante muchos años pueden llegar a tener una cantidad de cobre 10 veces superior a la normal [5] [9].

Las personas que presentan dicha enfermedad acumulan una mayor cantidad de cobre en su organismo, y su manifestación varía según los depósitos de cobre que presenten. Sin embargo, podemos nombrar algunos de los síntomas principales, que suelen ser hepáticos en la primera fase de la enfermedad, y neurológicos o neuropsiquiátricos en fases más avanzadas [9].

Entre los síntomas hepáticos nos encontramos con ictericia, epistaxis, dolor abdominal, edema en miembros inferiores y ascitis. La presentación en forma de fallo hepático fulminante ocurre hasta en el 3,5% de las personas con dicha enfermedad y para evitar su fallecimiento la única opción es un trasplante hepático [9].

Por otro lado, los síntomas neurológicos son debidos a la afectación extrapiramidal o cerebelosa, la cual se manifiesta a través de temblores en reposo, rigidez, exceso de salivación, discinesia, disartria, etc. Entre el 10 y el 20% pueden presentar manifestaciones psiquiátricas, afectivas, conductuales, neuróticas o incluso psicóticas [9].

5. CASO REAL EN ANIMALES

En el año 2010, en un establecimiento agropecuario sito en la provincia de Salta (Argentina), se comenzaron a producir muertes de vacas, y las que conseguían sobrevivir lo hacían en muy mal estado.

Este establecimiento se dedicaba principalmente a la agricultura, no obstante, las superficies que poseían baja productividad se destinaban a la ganadería de ciclo completo, con más de 2000 cabezas. El caso que se nos presenta sólo afectó a una reducida parte debido a la distribución de los animales en diferentes parcelas. El grupo afectado se encontraba compuesto por 54 vacas, la mayoría con crías, y dos toros [10].

Los primeros casos se observan el 25 de enero de ese

mismo año: 4 vacas muertas cuyo diagnóstico se encontraba muy alejado de la realidad. También se observaron varias vacas y un toro del mismo recinto con diarrea de color verde azulado intenso. Días más tardes, siguen otros animales con los mismos síntomas, con lo que se comenzó a pensar que la causa de todo era la ingesta de una planta tóxica [10].

El día 31 de enero se encontraron restos de un polvo verde azulado y la bolsa que lo contenía justo en la entrada de los potreros donde comenzaron las muertes. Tal polvo resulto ser oxiclورو de cobre, un producto químico de uso fitosanitario [10]

Las muertes continuaron hasta el 11 de febrero, con un total de 12, existiendo aún otros enfermos.

Las vacas muertas presentaban necropsia, se encontraban afectados los riñones, el hígado y el bazo cuyo color era petróleo verdoso con tonos azul intenso. También se observó que la vejiga urinaria tenía un contenido de orina espesa color verde [10], como se muestra en la siguiente fotografía:



Orina en el pasto del animal muerto [10]

Con respecto a los animales que sobrevivieron se observaron varios síntomas: secreción mucosa verdosa, hundimiento de ojos, etc.



Secreción mucosa verdosa [10]



Ojos Hundidos [10]

Se concluyó que los animales presentaban intoxicación por cobre, aguda en los primeros casos y crónica en las muertes posteriores. Por un lado, la intoxicación aguda de cobre por administrarse oxiclورو de cobre en este tipo de animales produce cólico severo, tialismo, diarrea acuosa de tipo hemorrágico (a veces de color gris verdoso, según el producto que la haya causado), etc., tal y como se observó en el presente caso [10].

Con respecto a la intoxicación crónica en los rumiantes se hace referencia a la ingestión prolongada de cantidades pequeñas del metal, el cual se acumula en el organismo hasta alcanzar niveles tóxicos. Las manifestaciones clínicas del problema pueden tardar semanas o meses en presentarse, dependiendo ello de la dosis de cobre [10].

6. CONCLUSIONES

Desde años remotos los venenos han sido utilizados para crear reacciones adversas en los organismos de los seres vivos, no obstante siempre hemos tenido la concepción de un estereotipo de veneno. La realidad es que existen multitud de clases, tanto venenos orgánicos como la cocaína, como gaseosos, volátiles o minerales, y es en éste último caso donde encasillamos al cobre. El cobre es un mineral que no asociamos al concepto de veneno, ya sea por todos los usos que le damos en nuestra vida cotidiana como por ser un elemento esencial para la vida. Pero a pesar de no ser el más tóxico, como hemos podido comprobar, en cantidades altas puede producir multitud de efectos perjudiciales para los seres vivos, por tanto, debemos prestar gran atención a este veneno llamado cobre que pasa desapercibido entre el resto.

REFERENCIAS

- [1] Web del Cobre crea hogar. <http://el-cobre-crea-hogar.es/cobre/historia>
- [2] Cano Díaz, Emilio, "EFECTOS DE LOS VAPORES DE LOS ÁCIDOS ACÉTICO Y FÓRMICO EN LA DEGRADACIÓN Y PATINADO DEL COBRE", Memoria presentada para optar al grado de doctor, Departamento de pintura, Facultad de Bellas Artes, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, pp. 16, 2001.
- [3] Web Historia y Bibliografías HB. https://historiaybiografias.com/el_cobre/
- [4] Transparencias de la asignatura Química Forense de la Universidad Pablo de Olavide, tema 2.
- [5] Jeanne Mager Stellman, PhD (editora), Gunnar Nordberg, *METALES: PROPIEDADES QUÍMICAS Y TOXICIDAD*, Chantal Dufresne, BA, pp.63.14, 1998.
- [6] Muñoz Nelson, "Introducción a los peces discos" *Acuariofilia total*, Vol. 21, pp.40, diciembre 2014.
- [7] Cabrera-Marutz, C.D., Velásquez-Alcalá, S. y Vrhovac-Biljesko, J, "Enfermedades profesionales en la industria del cobre: extracción, manufactura y reciclaje" *Medicina y Seguridad del Trabajo*, pp. 767, 2014; 60 (237).
- [8] Quintero Carrión, Enrique y Herrero Santos, José Ignacio (autores), Planas, Ramón y Salmerón, Javier (coordinadores). "Enfermedad hepáticas. Consejos prácticos", Plublicaciones Permanyer, pp. 68, 2007.
- [9] Antonio Millán Jiménez, Mercedes Ruiz Moreno (2013) Enfermedad de Wilson. Recuperado de: <http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/wilson.pdf> pp. 189-191.
- [10] Poodts, Gonzalo, "Intoxicación aguda con cobre en bovinos por ingestión de oxiclورو de cobre", Engormix.com., 2010.



Estudiante de Derecho y Criminología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

Big Data y Videojuegos

Ander Lakidain de Arriba

Resumen—En el siguiente artículo se explica la importancia del Big Data, cómo éste está presente en el mundo de los videojuegos y cómo se puede aplicar la información que extraemos en el proceso de desarrollo de un videojuego.

Palabras Claves— Big Data, Videojuegos, Información, Negocio.

1. INTRODUCCIÓN

Desde hace algunos años, la industria del videojuego es la industria multimedia que más recauda, siendo esta una industria en alza. En 2016, representó 101.1 mil millones de dólares [1], mientras que la industria cinematográfica recaudó 38.6 mil millones de dólares [2].

Con la aparición de los móviles, una gran parte de la población tiene un sistema doméstico con el que puede jugar. Todas estas personas generan una información constante sobre sus gustos, tiempo que pasan jugando, lugar desde donde juegan... Que se va almacenando y, por tanto, se hace necesaria una forma de poder interpretar ese gran volumen de datos. Pero esto no es algo exclusivo al videojuego: toda persona que está conectada está generando datos. En una sociedad en la que la información es el nuevo petróleo, todas las empresas tienen la necesidad de interpretar esos datos. Es aquí donde aparece el Big Data, listo para dar respuesta a esa necesidad concreta. Lo único que habría que preguntarse es ¿cómo puede la industria aprovecharlo?

2. BIG DATA

Facebook se encuentra sumido en un complicado proceso debido a que una empresa ajena (Cambridge Analytica) tuvo acceso indebido a los datos de 50 millones de usuarios [3] usándolos supuestamente para la campaña electoral de 2016 de Donald Trump, manipulando a los votantes para cambiar su voto. Actualmente, en la fecha en la que se escribe éste artículo, se sigue investigando la implicación de Facebook en el proceso. La plataforma guarda posts, conexiones... Toda la información posible sobre sus usuarios y posteriormente la venden a aquellos dispuestos a pagar por ella. Este caso en concreto nos da una idea de la importancia de la información que generamos por el simple hecho de estar conectados a internet.

Google, a través de todos sus servicios, trackea también toda la actividad de sus usuarios. Usando esta información, crea perfiles (el cual tú mismo puedes consultar [4]) que posteriormente vende a sus clientes.

Estas acciones se justifican en personalizar la experiencia de los usuarios y es uno de los principales modelos de negocio actualmente. Todo esto surge de toda esa información que se recoge y que podemos incluir en el término Big Data.

Cuando hablamos sobre Big Data hacemos referencia a un conjunto de datos cuyo tamaño, complejidad y volumen de crecimiento dificultan su procesamiento mediante tecnologías convencionales [5].

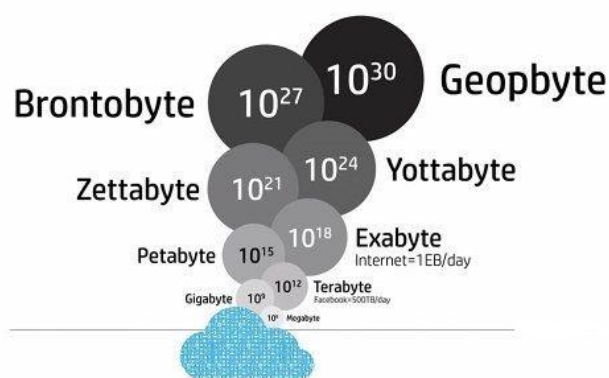


Fig. 1. Volumen de datos.

El volumen de datos que se genera es cada vez mayor: en el año 2020 se espera que haya 40 zettabytes de datos producidos [6], que, comparado con las escalas que manejamos normalmente, será una gran cantidad de información. Podemos apreciar la escala en la Fig. 1.

La naturaleza de estos datos no es fácilmente interpretable de forma convencional, ya que no está estructurada. Por ello, en la mayoría de casos, debe combinarse con datos estructurados. El análisis de estos datos de forma exitosa consigue: reducir costes, reducir tiempos, nuevo desarrollo de productos, entender las condiciones de mercado y controlar la reputación online [7]. Todo esto justifica la constante inversión que se realiza en esta área, pues retorna un increíble beneficio a las empresas, haciéndolas capaces de interpretar correctamente los datos que generan.

En un videojuego, cada acción queda registrada: movimientos, golpes, disparos... Estos datos no solo sirven a las empresas para mejorar elementos como las físicas; los jugadores también pueden aprovecharse para mejorar su juego. Nosotros nos centraremos en cómo las empresas las usan en los procesos de desarrollo del producto final.

3. APLICACIÓN EN EL PROCESO DE DESARROLLO DE VIDEOJUEGOS

En la edición número 26 de Moleqla dos compañeros (Manuel Ridao Pineda y Víctor Martinelli Rodríguez) ya hablaban del proceso de desarrollo de videojuegos, sus distintas fases y las distintas metodologías que se usaban [8]. Esta sección servirá de expansión sobre cómo podemos introducir el Big Data en esas partes de producción y cómo la industria del videojuego es capaz de explotar toda esa información generada.

En el desarrollo de un videojuego podíamos diferenciar tres fases: Pre-Producción, Producción y Post-producción en las cuales podemos integrar el conocimiento que hemos generado con una buena interpretación del Big Data.

3.1. Big Data en fase de Pre-Producción

Hay muchos aspectos que determinarán si un videojuego tiene éxito o no, ya sea la historia, la jugabilidad, los gráficos.... Una empresa con proyectos previos dispone de una gran cantidad de datos con los que trabajar: éstos te ayudan a saber las tendencias de mercado y, por tanto, decidir todos los aspectos de un proyecto de forma mucho más simple, lo que nos permite reducir los tiempos que empleamos en cada fase y reducir así los costes finales del producto que desarrollamos. Un buen ejemplo es Hearthstone, un videojuego de cartas Free to Play que supo encontrar su sitio cuando no existían alternativas online reales aparte de Magic The Gathering, dándole a su producto un aire mucho menos competitivo y más simple. Se realizó una fase beta cerrada en la cual se invitaron a más de un millón de personas, las cuales tenían que esperar un gran tiempo en ser invitadas debido al éxito que tuvo. En 2016 generó para Blizzard, la compañía creadora, 394.6 millones de dólares [9]. No es coincidencia que Blizzard se aventurara en éste proyecto en un momento en el que los juegos móviles empezaban su auge. ¿La razón? El usuario no necesitaba realizar una gran inversión de tiempo para jugar, podía jugar partidas rápidas y dejarlo para otro día, coincidiendo con ese perfil casual que buscó la compañía. Esta buena interpretación del mercado en ese momento concreto les hizo llegar para quedarse y todo gracias a la información que, previamente al desarrollo, tenían.

3.2. Big Data en fase de Producción

El Big Data no tendrá tanto impacto en esta fase como en el resto de fases. No obstante, se podrán obtener una serie de datos provenientes de las opiniones de los usuarios y la idea del alcance de nuestro producto, gracias a las fases alfa y beta, lanzadas cuando el producto esté casi finalizado. Estos datos extraídos de los usuarios son importantes para futuras decisiones y cambios a realizar. Dichos cambios no deberían ser radicales, pues esto generaría

una gran inversión que probablemente sea difícil de recuperar. Las decisiones importantes deben quedar solucionadas en la Pre-Producción empleando los datos de los que disponemos.

3.3. Big Data en fase de Post-Producción

Según el modelo de negocio de nuestro videojuego, esta fase puede ser fundamental para los ingresos que se generarán. Los datos nos pueden ayudar a arreglar fallos, añadir elementos o modos de juego (véase el caso de Fortnite como cambio con un éxito radical [10]). Pero una de las cosas más importantes es que el producto que se crea no debe acabar cuando el jugador deja del juego: Redes sociales, foros... surgen comunidades que comparten en común una afición con el videojuego [11]



Fig. 2. Final campeonato League Of Legends

En la Fig. 2. podemos observar el caso de éxito de League Of Legends, un juego que hace poco ha podido instaurar un sistema de franquicias parecido al de la NBA [12]. Éste juego Free to Play ha sabido montar una gran comunidad atendiendo a las peticiones de los jugadores y mejorando el juego con las estadísticas que generan. El juego se compone de una gran cantidad de personajes, cada uno con habilidades, las cuales tienen daño y utilidades que, mal calculadas, implicarían un desequilibrio en el juego. El desequilibrio haría que los jugadores se divirtieran menos, dejaran de jugar, dieran mala imagen online de la empresa y, con todo ello, una pérdida de dinero importante. Si, por el contrario, somos capaces de mantener contentos y enganchados a los jugadores, pasaría todo lo contrario: por ello es fundamental ser capaces de interpretar todas las acciones que los jugadores realizan gracias al Big Data.

4. CONCLUSIONES

En el día a día se generan una monumental cantidad de datos que son difíciles de interpretar. Las empresas están interesadas en esos datos, ya que con ellos pueden personalizar la forma en la que interactúan con el usuario, ya

sea para venderle un producto o para conseguir algo de él, como un voto. Surge pues el requerimiento de gente formada y con conocimiento en Big Data que ayuden a las empresas en el área que quieran explotar. El caso de la industria del videojuego no es distinto de las demás. De hecho, el beneficio que podemos conseguir depende en gran parte de la buena interpretación que se hagan de los datos que se recojan. Además, en un mundo cada vez más global, aquellas empresas que sigan refinando el proceso de Big Data serán capaces de destacar frente al resto y conseguir unos beneficios mayores que todas las demás, consiguiendo entrar en sectores emergentes, ofreciendo productos que suplan nuevas necesidades o mejorando productos en función de las nuevas tendencias del mercado.

REFERENCIAS

- [1] E.McDonald. "The Global Games Market Will Reach \$108.9 Billion in 2017 With Mobile Taking 42%".
<https://newzoo.com/insights/articles/the-global-games-market-will-reach-108-9-billion-in-2017-with-mobile-taking-42/>
- [2] Motion Picture Association Of America. "Theatrical Market statistics 2016" https://www.mpa.org/wp-content/uploads/2017/03/MPAA-Theatrical-Market-Statistics-2016_Final.pdf
- [3] C. Cadwalladr and E. Graham-Harrison. "Revealed: 50 million Facebook profiles harvested for Cambridge Analytica in major data breach".
<https://www.theguardian.com/news/2018/mar/17/cambridge-analytica-facebook-influence-us-election>
- [4] Cloud Fender Team. "6 links that will show you what Google knows about you" <https://medium.com/productivity-in-the-cloud/6-links-that-will-show-you-what-google-knows-about-you-f39b8af9decc>
- [5] Power Data Team. "Big Data: ¿En qué consiste? Su importancia, desafíos y gobernabilidad". <https://www.powerdata.es/big-data>
- [6] L. Mearian. "By 2020, there will be 5,200 GB of data for every person on Earth".
<https://www.computerworld.com/article/2493701/data-center/by-2020--there-will-be-5-200-gb-of-data-for-every-person-on-earth.html>
- [7] New Gen Apps Team. "5 Benefits: Competitive Advantages of Big Data in Business".
<https://www.newgenapps.com/blog/importance-benefits-competitive-advantage-big-data>
- [8] Revista Numero 26. Moleqla Informática
<https://www.upo.es/moleqla/export/sites/moleqla/documentos/Numero26/Numero26.pdf>
- [9] M. Minotti. "SuperData: Hearthstone trumps all comers in card market that will hit \$1.4 billion in 2017".
<https://venturebeat.com/2017/01/28/superdata-hearthstone-trumps-all-comers-in-card-market-that-will-hit-1-4-billion-in-2017/>
- [10] B. Crecente. "'Fortnite: Battle Royale': The Evolution of World's Largest Battle Royale Game".
<https://www.rollingstone.com/glixel/features/the-evolution-of-the-worlds-largest-battle-royale-game-w515421>
- [11] Reality Games Team. "The use of big data in the videogame industry". <https://wearerealitygames.com/2016/05/11/the->

[use-of-big-data-in-the-video-game-industry/](#)

- [12] P. Volk. "NA LCS is franchising. Here's what that means", *Rift Herald*. <https://www.riftherald.com/2017/6/1/15720812/na-lcs-franchising-explanation-summary-lol-revenue-sharing>



Ander Lakidain de Arriba se encuentra actualmente cursando el segundo curso en el Grado de Ingeniería Informática en Sistemas de Información en la Universidad Pablo de Olavide.

Desarrollo de Aplicaciones Seguras

Manuel Gandul Pérez

Resumen—En este artículo se indica qué es la seguridad informática y de la seguridad en los productos software, indicando errores en su desarrollo que perjudican a la seguridad, el momento idóneo para tenerla en cuenta en el desarrollo y se dan algunos consejos para mejorar la seguridad durante el desarrollo software.

Palabras Claves— Desarrollo, Seguridad, Aplicaciones Seguras, Errores en Desarrollo, ciclo SDLC, Consejos de desarrollo seguro, Factores de autenticación, Creación de roles, Encriptación.

1. INTRODUCCIÓN

Según la norma ISO 7498, la seguridad informática es “Una serie de mecanismos que minimizan la vulnerabilidad de bienes y recursos en una organización” [1], mientras que INFOSEC Security 2000 se define como “Las medidas y controles que aseguran la confidencialidad, integridad y disponibilidad de los activos de los sistemas de información incluyendo hardware, software y firmware y aquella información que procesan, almacenan y comunican” [2].

Aun así, no existe ninguna forma para garantizar el 100% de la seguridad de ningún sistema de información, en palabras de Gene Spaffor, un experto reconocido en seguridad: “El único sistema verdaderamente seguro es aquel que se encuentra apagado, encerrado en una caja fuerte de titanio, enterrado en un bloque de hormigón, rodeado de gas nervioso y vigilado por guardias armados y muy bien pagados. Incluso entonces, yo no apostaría mi vida por ello” [3].

Los sistemas de información pueden ser protegidos de forma lógica, mediante el desarrollo software, o de forma física, por ejemplo, protegiendo los sistemas frente a subidas de tensión. Igualmente, las amenazas pueden venir desde un software malicioso instalado en el equipo por un usuario, *Malware*, o de manera remota mediante Internet, por ejemplo, cuando un ciberdelincuente se conecta a un equipo para robar datos confidenciales.

Uno de los casos más recientes de esto último es el reciente ataque mundial del *Ransomware* conocido como “*WannaCry*”, que empezó el 12 de mayo de este año 2017. Este ataque fue dirigido principalmente al sistema operativo de Microsoft Windows y que consistía en la encriptación del disco duro del equipo para pedir un pago económico en bitcoins.

2. SEGURIDAD EN LOS PRODUCTOS SOFTWARE

2.1. Qué es

La seguridad en los productos software son múltiples factores en el desarrollo de software, que va desde la concepción del proyecto, hasta más allá de la muerte de este, mediante parches de seguridad y actualizaciones. Cuando

nos referimos a este tipo de seguridad nos referimos a un conjunto de actividades que fomentan la codificación y el diseño de un software.

Cabe destacar que cuando se refiere a la seguridad del sistema no se refiere a las características de éste, como funcionar bajo *SSL*, o a los componentes de esa seguridad como *Software Antivirus*.

2.2 Errores sobre la seguridad en el desarrollo

Durante el tiempo en el que se desarrolla una aplicación suelen surgir muchas dudas en cuanto a la seguridad, y muchas respuestas a esas preguntas son erróneas o con un planteamiento muy vago. Las respuestas a esas preguntas suelen ser: “*Si nadie sabe como funciona, no van a atacarlo*”, “*Es seguro porque está encriptado*” o “*No tenemos tiempo para pensar en hacer segura la aplicación*”.

Respuestas que, claramente, impiden hacer un software seguro. Ya que, respondiendo a las afirmaciones anteriormente citadas, si los miembros de un equipo de desarrollo no saben como funciona una parte del software, no implica que un atacante no lo sepa; que una comunicación esté cifrada no implica que una persona pueda romper la encriptación; y, por último y no menos importante, el no pensar en la seguridad de una aplicación por tener cerca una fecha de entrega no es lo más inteligente, ya que es probable que tras sufrir un ataque, el cliente pida explicaciones al equipo de desarrollo.

2.3 Cuándo pensar en la seguridad en el desarrollo

Para responder esta pregunta debemos de conocer primero el ciclo SDLC (*Software Development Life Cycle* o *Ciclo de Vida del Desarrollo Software* en español), que dispone de cinco etapas, que son: “*Recogida de requisitos*”, “*Análisis*”, “*Diseño*”, “*Implementación*” y “*Mantenimiento*”.

Una vez conocidas estas etapas, se debe pensar en cuál de ellas se debe de plantear la seguridad. Ésto es cuanto antes mejor, ya que si se plantea al cliente en un principio medidas de seguridad que se pueden implementar desde el primer momento, éste puede estar más seguro que se harán las cosas bien. Además de que, durante las etapas de análisis, diseño e implementación, se debe de detectar las posibles vulnerabilidades de la aplicación y solventarla. Además de buscar todas las vulnerabilidades que no se han detectado en las etapas anteriores y durante la etapa

de mantenimiento debemos de solventarlas.

Por lo que sacamos en conclusión que se debe de prestar atención a la seguridad durante todo el proceso de creación de los productos software y durante el proceso de mantenimiento de ésta.

3. CONSEJOS PARA EL DESARROLLO DE APLICACIONES SEGURAS

Según Denise Giusto en welivesecurity.com: "Se estima que, en la actualidad, el 50% de las vulnerabilidades en los sistemas tienen su origen en fallas de diseño" [4]. Éstas se diferencian de los fallos de implementación ya que se generan en fases muy tempranas del proyecto, y para solventarlas necesitamos un proceso de reingeniería muy complejo. Por ello, éstos son algunos consejos que nos pueden ayudar a hacer un desarrollo de una aplicación segura intentando evitar fallos en cualquier fase de desarrollo, según welivwawcurity.com [4].

3.1 Ningún componente es confiable

Un error bastante común es que se toman como seguros componentes de terceros, o incorporar funcionalidad crítica de la aplicación en un elemento que no están bajo control de los desarrolladores. Nunca se deben de tomar como componentes confiables elementos del sistema hasta que esto pueda ser demostrado.

3.2 Crear mecanismos de autenticación eficientes

En numerosas ocasiones, se piensa que los mecanismos de autenticación son suficiente medida de seguridad, sin preocuparnos de que si de alguna forma puedan sortear el mecanismo de autenticación.

Es por ello por lo que preocuparse de que cada vez de que se intente hacer una operación que requiera autenticación comprobar que se está en este estado. Además de preocuparse de que la persona que se esté identificando con un usuario sea la dueña de este, mediante el doble factor de autenticación.

Para aplicar el doble factor de autenticación se debe de conocer el número de factores a escoger entre los seres humanos:

- *Algo que soy*: Como la huella digital o un reconocimiento de retina.
- *Algo que sé*: Como la contraseña o una pregunta de seguridad.
- *Algo que tengo*: Como por ejemplo un mensaje en el móvil o una tarjeta de seguridad.

Para aplicar este tipo de método de autenticación se debe de usar al menos dos factores, y conforme más factores haya más segura será la aplicación. Por ejemplo, usar la contraseña y la huella digital, o un reconocimiento de retina y una tarjeta de seguridad.

3.3 Crear de roles

Es posible que una vez creado un mecanismo de autenticación se olvide de crear roles de usuarios. Ésto debe de ser importante ya que, sin roles, cualquier usuario podría acceder a cualquier parte de la aplicación, cosa que no sería segura. Por ejemplo, un software de banca en el que un usuario puede acceder a la cuenta de un familiar para

retirar dinero siempre que quiera, sin tener ningún tipo de cuenta especial para ello.

Lo más importante de crear roles es el poder etiquetar a los usuarios y dejarlos entrar en configuraciones o cualquier tipo de control o servicio del software que no deba, comprometiendo datos privados de los usuarios.

3.4 Validar los datos explícitamente

Una de las cosas que se debe de tener en cuenta en la arquitectura Cliente – Servidor es que, en una gran cantidad de peticiones al servidor, pedirán algo en concreto que el servidor deba proporcionar, ya sea una lista de clientes, de proveedores, o de alumnos. Es importante que en las comunicaciones se haga un filtrado de las comunicaciones, ya que, si se usa una base de datos SQL, podría atacarse mediante por un ataque de *SQLInjection*.

Para evitar esto, una de las soluciones podría ser hacer una lista blanca sobre lista negra, es decir, decidir qué se quiere permitir, y qué se quiere denegar. Sabiendo que los atacantes interpretan los datos como lenguajes de programación, se debe de negar el paso para que se traten a determinados elementos comunes de los lenguajes de programación.

3.5 Usar la encriptación de forma correcta

En innumerables casos, no se hace un análisis de lo verdaderamente crítico en la aplicación, y se tiende a encriptar todo, o no encriptar nada, lo que puede hacer que la aplicación baje el rendimiento, o sea muy insegura. Es por ello por lo que se debe de analizar y comprobar cuales son los elementos que debemos de encriptar.

Otro problema importante es estimar necesario crear un sistema de encriptación propio, cosa que es muy arriesgada ya que si no se hace de forma correcta se puede crear una brecha en la seguridad del software. Es por ello por lo que si se quiere crear una encriptación propia se debe de tener un asesoramiento para usar las librerías adecuadas para el software.

3.6 Tener en cuenta a los usuarios del software

Es necesario pensar, también, en el usuario final que va a usar el software. Por muy seguro que sea un software, si es demasiado complejo de usar por ser seguro, el usuario no hará uso de él. Igualmente, si el software es demasiado inseguro los usuarios no lo usarán por esto mismo. En conclusión, se debe de encontrar el equilibrio entre la seguridad y la usabilidad.

3.7 Considerar cambios futuros en el software

Desde la fase de diseño, se debe considerar nuevas funciones que puedan comprometer la seguridad del software. Por lo que se debe de tener en cuenta los posibles cambios en casos de uso y la creación de nuevos actores para que no afecte posteriormente, además de tener en cuenta cómo le afectarán al software las migraciones desde otros sistemas.

4. CONCLUSIONES

En conclusión, lo mejor que podemos hacer para hacer que nuestro software sea seguro es, primero plantear el

plan de seguridad desde el principio, ver dónde están los datos críticos, y pensar en cómo garantizar la seguridad de estos; durante el proceso de creación del mismo, debemos de detectar las brechas de seguridad que no tuvimos en cuenta anteriormente y detectar nuevos fallos en la seguridad ocasionados por elementos de terceros; y para finalizar, durante la fase de mantenimiento debemos de seguir velando por la seguridad de nuestro software, mediante las pruebas periódicas y solventar los fallos que se encuentren mediante actualizaciones.

Aun así, una de las mejores prácticas que podemos hacer es pedir consejo a un experto en seguridad, para minimizar los posibles problemas que podamos encontrar.

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer al profesor Dr. Norberto Díaz-Díaz por ofrecerme la oportunidad de hacer este artículo.

REFERENCIAS

- [1] ISO 7498 <https://www.iso.org/standard/14256.html>
- [2] INFOSEC Glossary 2000
<http://www.dtic.mil/dtic/tr/fulltext/u2/a433929.pdf>
- [3] <https://www.jmramirez.pro/articulo/por-que-la-seguridad-informatica/>
- [4] <https://www.welivesecurity.com/la-es/2015/03/12/10-consejos-desarrollo-seguro-de-aplicaciones/>



Manuel Gandul Pérez es administrador de sistemas informáticos en red titulado en 2017. También es alumno de Ingeniería informática en Sistemas de la Información en la Escuela Politécnica Superior de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

Lenguajes para el desarrollo de Sistemas de Información en Tiempo Real

David Ruiz Carmona

Resumen— En este artículo se explica de manera general el concepto de Sistema de Información en tiempo real, así como las posibles clases de lenguajes de programación que son utilizadas para el desarrollo de STR.

Palabras Claves—Tiempo Real, Sistema, STR, Lenguajes, Programación, Ensamblador, Concurrente, Secuenciales.

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas de tiempo real (STR) son sistemas críticos, es decir, se trata de aplicaciones para las cuales el tiempo en que se produce la respuesta es un requerimiento esencial.

Por lo general, un STR incluye un conjunto de dispositivos independientes (hardware y software) que operan a diferentes velocidades.

En un STR se deben satisfacer requerimientos de rendimientos. Comparando con un sistema tradicional, se debe tener especial control sobre la utilización de recursos, mejora en los tiempos de respuesta y manejo de distintas prioridades.

Se espera que un STR se ejecute en forma continua, automática y segura, teniendo un impacto en los costos de desarrollo y la seguridad.

Esta caracterización indica claramente que un STR tiene que emplear herramientas de desarrollo y modelado diferentes a las utilizadas en el desarrollo de software tradicional [1].

2. DEFINICIÓN

Sistema de tiempo real son aquellos que deben producir respuestas correctas dentro de un intervalo de tiempo definido. Si el tiempo de respuesta excede ese límite, se produce una degradación del funcionamiento y/o un funcionamiento erróneo [2].

3. CARACTERÍSTICAS DE LOS STR

Un sistema en tiempo real cuenta con las siguientes características:

- **Concurrencia:** Con la concurrencia se descompone un programa en procesos o tareas que son

ejecutadas simultáneamente.

- **Dependencia temporal:** El tiempo en el que deben completarse las acciones debe ser especificado.
- **Fiabilidad:** Estos sistemas deben tener un mecanismo para la recuperación inmediata de fallos.
- **Complejidad:** Mientras más funcionalidad tenga un STR mayor es la complejidad de este.

En función de la fiabilidad de los STR, se pueden clasificar en:

- **STR crítico:** El sistema tendrá que realizar sus funciones en el tiempo especificado. En caso contrario, se dice que el sistema ha fallado. Un ejemplo es el sistema de un marcapaso cardíaco.
- **STR acrítico:** Estos sistemas pueden dar respuesta en un plazo de tiempo superior, lo que conlleva una pérdida de calidad del mismo.
- **STR estricto:** El sistema es crítico y además los plazos son muy cortos.

En función de la evolución temporal de los STR, se pueden clasificar:

- **STR de actividad periódica:** Las actividades se ejecutan a intervalos regulares de tiempo, y deben ser completados en un plazo de tiempo.
- **STR de actividad aperiódica:** La actividad se ejecuta como respuesta a un evento externo determinado.

4. LENGUAJES DE PROGRAMACIÓN

La implementación de la aplicación (conversión entre el diseño basado en la especificación de requerimientos y el código ejecutable) está determinado fundamentalmente por la elección de un lenguaje de programación adecuado. En muchas ocasiones el lenguaje condiciona a las herramientas de diseño a utilizar.

Es posible identificar tres clases de lenguajes de progra-

mación que se utilizan en el desarrollo de aplicaciones de tiempo real:

- Lenguaje ensamblador
- Lenguajes secuenciales de alto nivel
- Lenguajes concurrentes de alto nivel

4.1. Lenguaje ensamblador

Inicialmente, la mayoría de los sistemas de tiempo real se programaban en el lenguaje ensamblador del ordenador empotrado utilizado. Esto era debido fundamentalmente a que los lenguajes de alto nivel no eran soportados por los pequeños microcontroladores utilizados en estas aplicaciones, ya que la única forma de conseguir eficiencia era acceder directamente a los recursos hardware.

La limitación anterior se ha ido solucionando con el tiempo con la aparición de ordenadores más potentes junto con compiladores cada vez más eficientes en la generación de código máquina.

El principal problema con el uso del lenguaje ensamblador es que se trata de un lenguaje orientado a la máquina y no al problema. El programador debe tratar con detalles que nada tienen que ver con los algoritmos que está programado, haciendo que la implementación sea oscura y compleja. Esto da lugar a que los programas sean más difíciles de mantener y modificar, aumentando también el coste de depuración de errores.

Asimismo, hace que las aplicaciones no sean portables exigiendo una reescritura completa cuando se cambia de plataforma [3].

4.2. Lenguajes secuenciales de alto nivel

El incremento de potencia en los ordenadores, la madurez de los lenguajes de programación y el progreso en la tecnología de compiladores, han hecho que las ventajas de escribir el software en un lenguaje de alto nivel hayan superado las limitaciones indicadas anteriormente.

Las aplicaciones de tiempo real se pueden realizar utilizando lenguajes generales como **C**, **C++**, **Java**, **Pascal**, **Fortran** o lenguajes específicos para sistemas empotrados (Javial, Coral, RTL/2). El uso del lenguaje **C** en aplicaciones de tiempo real se ha extendido debido a la capacidad de compaginar el uso eficiente de los recursos permitiendo el acceso a bajo nivel, junto a una programación estructurada y funcional.

Más recientemente el uso de las metodologías de diseño orientadas a objeto, que facilitan el diseño de grandes sistemas, ha hecho que lenguajes como **C++** o **Java** se hagan cada vez más populares.

Todos los lenguajes descritos anteriormente tienen la característica común de que son secuenciales. Son por tanto lenguajes que no proporcionan mecanismos para el control de los aspectos del tiempo real y de la fiabilidad. Debido a esto, es necesario depender de un sistema operativo que aporte dichas funcionalidades [3].

4.3. Lenguajes concurrentes de alto nivel

El aumento de complejidad de las aplicaciones junto a la diversidad de lenguajes utilizados dio lugar a una cierta crisis en la producción de software. Las aplicaciones se hacían menos eficientes y cada vez más costosas de desarrollar.

Los lenguajes orientados a objetos supusieron un importante cambio en la metodología de diseño que está empezando a ser aplicada actualmente a los sistemas de tiempo real. Lenguajes como **C++** y más recientemente **JAVA** (desarrollado para trabajar en pequeños sistemas empotrados) están modificando la forma de trabajo de los programadores. El lenguaje **ADA 95** incorporó también la orientación a objetos.

Existen otros lenguajes específicos como **PEARL**, (utilizado en aplicaciones de control), **Mesa** (1985) desarrollado por Xerox y **CHILL** (CCITT, 1980) desarrollado para aplicaciones de telecomunicaciones.

Moduloa-2, PEARL, Mesa, CHILL, ADA 95 son lenguajes de alto nivel concurrentes incluyendo dentro del propio lenguaje mecanismos para el manejo del tiempo real (planificación de procesos, manejo de eventos, ...) [4].

5. CONCLUSIONES

Los sistemas de información en tiempo real tienen un gran papel en nuestra vida, ya que como todo sistema tienen que tener la capacidad de satisfacer tareas en un tiempo mínimo. Estos sistemas están constantemente por nuestro alrededor, como pueden ser en teléfonos móviles, vehículos, máquinas de hospital, etc.

La implementación de estos tipos de sistemas está condicionada fundamentalmente por el lenguaje de programación que valla ser utilizado, ya que condicionara las herramientas de desarrollo que se va a utilizar.

REFERENCIAS

- [1] Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Informática Catedra de Sistemas de Tiempo Real – Facultad de Informática – UNLP
http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/22075/Documento_completo.pdf?sequence=1
- [2] Stuart Bennet. 'Real Time Computer Control' Ed Prentice Hall 94 ISBN0-13-764176
- [3] Sistemas Informáticos en Tiempo Real: Teoría y Aplicaciones, Luis M. Jiménez García, Rafale Puerto Mancon, UNIVERSITAS Miguel Hernández, pp. 17-18
- [4] Sistemas Informáticos en Tiempo Real: Teoría y Aplicaciones, Luis M. Jiménez García, Rafale Puerto Mancon, UNIVERSITAS Miguel Hernández, pp. 19



David Ruiz Carmona – Estudiante de tercer año del Grado en Ingeniería Informática en Sistemas de Información de la Universidad Pablo de Olavide.

El fin de Eden

Manuel Martínez Ruiz



Corrían tiempos aciagos. El escuadrón americano había logrado tomar posición en el frente de Eden, antigua capital de los magos.

La guerra estalló con la caída de la Isla Celestial, lugar donde los magos había vivido ocultos a la sociedad mundana desde épocas que ya nadie recordaba. Los mundanos, acostumbrados a sus ciencias -matemáticas, física, astronomía, etcétera- no concebían la existencia de la magia. Se negaron a entender que todas las maquinarias de aquella isla caída, nunca antes vistas, estaban alimentadas por motores cuyo combustible era el maná, el principal elemento de las artes mágicas. La idea que los mundanos tenían de la magia era ridícula, casi ofensiva; como que realizar una maldición no consumía energía vital o que el adiestramiento de criaturas fantásticas era comparable al de un perro cualquiera.

Como normalmente sucede, toda aquella confusión y desconocimiento fue el detonante de la Guerra contra los magos que casi había acabado con su total extinción.

La Tercera Guerra Mundial.

Gabriel -aunque todos quiénes le conocían le llamaban por su apodo: el Cid-, un joven mago; de piel oscura; que no superaba los dieciocho años y siempre ataviaba túnicas mágicas, era de los pocos de su sociedad que se había negado a aceptar que la guerra ya estaba decidida y aquellos eran sus últimos días de vida. Muy propio de su testarudez.

El Cid se había vuelto un leal a las órdenes del rey gracias a sus habilidades en el campo de batalla y convertirse en quién logró más bajas del ejército enemigo. Su popularidad había logrado ganarse numerosas enemistades y le hizo enloquecer de quiénes pretendían sabotearlo o dañar a su reciente hijo.

Su más reciente batalla había sido en Eden, la cuál tuvo que abandonar por la urgente llamada de uno de sus

compañeros de guerra que exigía que volviese rápidamente. Ese hecho causó que su armada quedase expuesta a las armas de fuego del enemigo y sufriesen una humillante derrota. ¿Qué sería lo suficientemente importante como para desproteger la capital de los magos?

Ruidos de pistolas, hechizos y alaridos inundaban el campo de batalla. El Cid se encontraba en el más punto álgido, en una torre, junto a la más joven de sus lugartenientes.

- ¡Capitán! -gritó uno de los magos a El Cid; su voz estaba entrecortada debido a su avanzada edad. Parecía desesperado; había llegado corriendo.

- ¿Qué quieres? -preguntó él, que contemplaba la ciudad de brazos cruzados y llevándose el pulgar derecho al labio.

- Los mundanos están derribando nuestras tropas. ¡Necesitamos una orden!

- Espérate -contestó con total indiferencia, sin siquiera dignificarse a apartar la mirada para ver a los ojos al recluta.

- ¡¿Qué?! -se le escapó- ¿Quiere decir que están masacrando nuestro cuerpo y usted no pretende hacer nada al respecto? -sin duda, triplicar la edad a su capitán hacia mella en el debido respeto a su superior.

. Yo no he dicho eso -su tono se había vuelto más severo-. Analizo a los enemigos, es por eso por lo que estoy aquí y por lo que me he ganado este rango. Cuando lo crea conveniente, enviaré una orden, hasta entonces, no vuelvas a cuestionarme

- Lo siento -se le notaba más tembloroso.

- ¿Tú no deberías estar luchando en el frente, recluta? - hizo especial énfasis en su última palabra.

- ¡Sí! -corrió de vuelta a su posición torpemente.
- Creo que tenía un poco de razón, Capitán Gabriel -añadió la lugarteniente una vez se fue el recluta. Procuraba ser lo más dulce posible.
- ¿Y tú qué quieres? -se dirigió a ella, molesto.
- Necesitan una orden, y usted es el único que puede dársela -explicó.
- Es difícil -se justificó El Cid-. No es fácil predecirles, se mueven rápido y su armamento es mucho más poderoso.
- ¿Y? Eso nunca había sido un problema -El Cid refunfuñó-. Capitán, le conozco bien, se que no soporta ver a su cuerpo militar morir. Ese comportamiento tan rudo solo confirma lo que digo; está molesto, ¿pero de qué?
- Ataca por el frente con la Brigada Flecha. Defiende los extremos con conjuros de materialización fugaz de piedra. Quiero que por la retaguardia acorralen al enemigo usando maldiciones ígneas. No quiero objeciones. Que lo ejecuten.



Cid cabalgando a Babieca

La lugarteniente esbozó una sonrisa. Sabía que había evitado la respuesta a su pregunta. Gotas de sudor corrían por la sien de El Cid, aunque las ocultó a su subordinada mirando hacia otro lado.

Pocos segundos después de las órdenes de El Cid, los reclutas habían sido informados. La maniobra había sido ejecuta exitosamente, aunque eso solo había logrado

tomar ventaja en una zona.

- ¡Cid! -vociferó alguien justo a sus espaldas.

El Cid empuñó rápidamente su espada y, en un veloz giro de cuerpo de 180 grados, la punta ahora apuntaba a la garganta de quién había pegado semejante grito. Ambos estaban inmóviles, lo único que se oía era el campo de batalla.

- Baje el arma -tranquilizó la lugarteniente acariciando la espalda del joven.

El Cid vaciló. Obedeció. Bajó lentamente el arma.

- ¿Qué quieres? -preguntó aún con los nervios a flor de piel.

- Es un mensaje del ejército León -explicó-. Al parecer, urgen de su asistencia, y rápido. No me pida explicaciones, yo tampoco las sé.

- ¡¿Y quieren que abandone la batalla?!

- Es por eso por lo que me mandan a mí. Soy el Capitán Miguel Ceres -se presentó.

Cid se mostraba confuso y frustrado. ¿Por qué iba a confiar su ejército a un desconocido?

- Le gustaría saber que la orden ha sido dada por su majestad - Miguel había deducido que El Cid dudaba de sus palabras, aunque aquella frase cambió totalmente su expresión. Mostró un pergamino firmado con la firma del Rey, Elías, junto al sello real grabado en lacre -. Es solo esto, figúrese la prisa que tenía como para no haber añadido ni siquiera un comentario. Debe tomar una decisión rápida, Capitán.

El Cid volvió a vacilar. Pero no tardó en arrancar lo que parecía una medalla de su túnica.

- Toma -dijo ofreciendo el objeto arrancado-. Con esto obedecerán tus órdenes. Te estoy confiando toda una armada y el destino de la capital. Hazlo bien.

No lo hizo.

Miguel recogió la medalla y la colgó de la solapa izquierda de su traje. Ni siquiera se había despedido cuando El Cid saltó de la torre, lo que a los ojos normales parecería un suicidio, pero contaba con carísimos polvos

feéricos cubiertos por el cuerpo - lo tenía previsto por si algún ataque enemigo lograba derribar la torre - y, flotando, se alejó de la ciudad. Se dirigía al sur, donde se posicionaba el ejército León, dispuesto a descubrir que sucedía. Aterrizó en una bestia, que ni siquiera se inmutó de su presencia hasta que él le acarició su escamoso cuello.

- Al sur, Babieca. Órdenes del rey - susurró.

Fue suficiente para que el animal trotase a toda velocidad hacía su destino.

El Cid se aproximaba a las trincheras aliadas. Con suma parsimonia, aún habiéndole exigido que llegase lo antes posible, pues no quería confundir a sus propias defensas evitando ser víctima del fuego amigo; entre la tormenta de polvo que arreciaba y nublabla su vista, cabalgaba a Babieca, su montura híbrido de dragón y unicornio de largas escamas plateadas. Lo cierto es que Babieca casi no preservaba ningún rasgo de dragón o unicornio, salvo las piernas de equino cubiertas por plateadas escamas o su mandíbula del épico y ya casi desaparecido reptil volador; incluso sus alas, en las que se encontraba grabado la runa de Eden -una «o» acentuada con «^» sobre una «y»-, tenían el mero grosor de las pequeñas ramas de un árbol; pero su aspecto era lo normal del cruzamiento de aquellas dos épicas especies mediante rituales prohibidos,

el experimento que intentó probar a los mundanos las salidas de los estudios de las artes mágicas como ciencia durante una conferencia poco antes de que se iniciase la guerra (aunque no se estarían desarrollando los hechos que ahora sufre el Cid si aquella demostración hubiese sido tan efectiva como se esperaba).

El Cid bajó de la espalda de Babieca una vez ya dentro de las trincheras. Una mujer de pelo rojizo, ojos castaños y mayor que él, se acercó al joven.

- ¿Qué querías comunicarme, Ariel? -pronunció el Cid con voz melosa, aunque igualmente firme e intimidante.

-Es tarde, Cid -tras un breve silencio, respondió la mujer en un tono firme y apenado-. Han raptado a tu mujer.

Un resentimiento que jamás había sentido embargó a el Cid. Era el precio de la guerra: defender tu nación e ideales a costa de perder lo que amas aún más que aquello por lo que has estado luchando. El destino de los héroes.

AGRADECIMIENTOS

A mi padre, quién me ha respaldado para hacer tanto este trabajo como todo lo demás en mi vida.



Manuel Martínez Ruiz es estudiante de cuarto de la ESO del Instituto Martínez Montañés.

El uso de la imagen digital en la caracterización de obras pictóricas

Luis Javier Sánchez-Aparicio

Resumen— Es, en las últimas décadas, donde gracias a los desarrollos experimentados por las técnicas de captura y ensalce de imagen digital, así como por los métodos matemáticos de clusterización, los científicos, conservadores y restauradores han podido ir un paso más allá en la caracterización y entendimiento de obras pictóricas. Técnicas, que explotan los fenómenos de interacción entre la materia y la radiación (poder de penetración o fenómenos de fluorescencia) para poder analizar la obra a diferentes niveles: caracterización de pigmentos orgánicos e inorgánicos, evaluación de repintes, presencia de barnices o dibujos preparatorios entre otros aspectos. Bajo este paraguas de posibilidades, la presente publicación pretende ofrecer una visión general de funcionamiento y potencialidades que ofrece el análisis digital de la imagen en el diagnóstico de obras pictóricas, bien sean estas sobre lienzo o sobre estrato rocosos (pinturas rupestres).

Palabras Claves— Análisis digital de la imagen, Arte rupestre, Caracterización de pigmentos, Clusterización.

1. INTRODUCCIÓN

El correcto análisis de obras pictóricas, bien sean estas en lienzo, mural o incluso sobre soporte pétreo natural (arte rupestre), requiere de forma ineludible un análisis exhaustivo a diferentes niveles. Análisis donde la caracterización de pigmentos, repintes, presencia de barnices o la determinación de los propios trazos existentes constituye un paso ineludible. Es, en esta última década, donde los avances en captura y procesado de imagen digital han permitido facilitar dichas tareas, ofreciendo tanto a investigadores como conservadores y restauradores, una herramienta de gran flexibilidad y alta robustez capaz no solo de caracterizar los diferentes pigmentos presentes en la obra, sino también características no visibles tales como dibujos preparatorios [1-4].

Bajo el paraguas de necesidades inherentes a la caracterización de obras pictóricas, el presente artículo pretende ofrecer una visión general del método de análisis digital de la imagen capturada en diferentes espectros (desde el ultravioleta hasta el infrarrojo), por diferentes métodos (reflectografía y fluorescencia), así como de los métodos de cartografiado (métodos de clusterización) empleados en la actualidad para el diagnóstico de obras pictóricas.

2. EL VALOR RADIOMÉTRICO DE LA IMAGEN DIGITAL

2.1. La interacción entre la materia y la energía

La radiación capturada por los sensores fotográficos, bien sean estas cámaras convencionales o no, depende en gran medida de la interacción de la luz radiante (visible, ultravioleta o infrarroja entre otras) con la superficie del material [5]. Interacción que, en el caso de obras pictóricas, permite caracterizar los materiales presentes en las diferentes capas pictóricas (pigmentos, bases de preparación, repintes o dibujos preparatorios) a través de la reflectan-

cia emitida en dicha interacción (Fig. 1a).

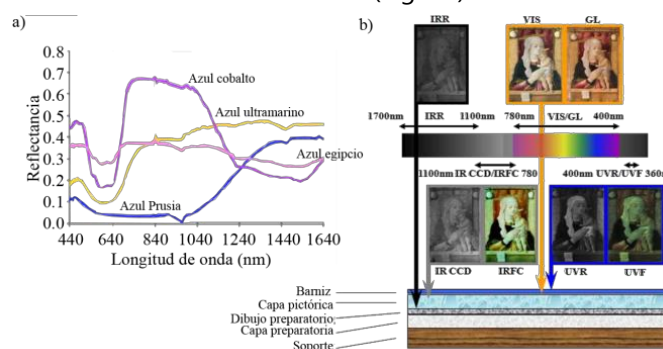


Fig. 1. Representación gráfica general de los principios del análisis digital de la imagen para la caracterización de pinturas: a) respuesta espectral de pigmentos y; b) poder de penetración de la radiación incidente. El término IRR hace referencia a una imagen obtenida por reflectografía infrarroja, VIS a una imagen visible; GL a una imagen capturada con iluminación rasante; IR CCD a imágenes capturadas con sensores de infrarrojo; IRFC a imágenes en falso color en la región del infrarrojo; UVR a imágenes procedentes de la reflectancia ultravioleta y, UVF a imágenes procedentes de la fluorescencia ultravioleta. Adaptada de www.webexhibits.org/pigments/intro/look.html

Bajo la premisa anteriormente expuesta, autores como Cosentino [6] y Daveri *et al.* [4], en obras pictóricas sobre lienzo, o Cortón Noya [2], Rogerio-Canderera *et al.* [7] y Torres-Martínez *et al.* [1] en sus estudios sobre pinturas rupestres, dejan entrever la potencialidad de ciertas zonas del espectro para el análisis de obras pictóricas (Fig. 1b): (i) el espectro visible (VIS) para la detección de trazos rupestres y pigmentos de manera generalizada; (ii) el infrarrojo (IR) para la detección de dibujos preparatorios, trazos ocultos o la detección de pigmentos por fluorescencia como el amarillo cadmio y; (iii) la región ultravioleta (UV) para el análisis de colonizaciones biológicas, repintes o bases preparatorias a base de tempera o aceite de linaza.

2.2. Técnicas fotográficas para el análisis digital de obras pictóricas

Bajo el amparo de los espectros anteriormente definidos, se hace necesario recurrir al empleo de un conjunto de técnicas fotográficas capaces de suministrar esa información, siendo las más generales [2]: (i) la reflectografía visible; (ii) la reflectografía visible con luz polarizada; (iii) la reflectografía IR y UV y; (iv) la fluorescencia IR y UV.

En términos generales, todas estas técnicas suelen emplear cámaras réflex convencionales, a excepción de los métodos de reflectografía en el IR lejano (1000-1700 nm) que requiere del uso de cámaras del tipo InGaAs [6].

En lo que respecta a la primera y segunda de las técnicas, el sensor fotográfico resulta ser idéntico: una cámara convencional capaz de capturar en el espectro visible. La principal característica de la segunda, reside en el empleo de fuentes de luz y filtros polarizados [2]. Equipamientos que promueven una captura de imagen sin reflejos ni sombras, mejorando así los resultados de la clasificación de los pigmentos [2].

Para la segunda de las técnicas, la fotografía por reflectografía, se hace requisito indispensable el uso de filtros capaces de bloquear la radiación visible y permitir el paso de la radiación deseada, bien sea esta IR o UV. Estos filtros, pueden quedar instalados en la propia lente o incluso en el sensor de la cámara [1, 2].

Para la reflectografía y fluorescencia UV se hace necesario el uso de lámparas de luz oscura (lámparas equipadas con filtros de Wood) sin olvidar, tampoco, el uso de filtros UV que permitan filtrar la radiación procedente del visible. Bajo estas condiciones de estudio, materiales tales como los barnices, materia orgánica o incluso la presencia de repintes pueden provocar fenómenos de fluorescencia [2-4]. Dichos fenómenos en general, se caracterizan por una escasa reflectancia lo que obliga al uso de grandes tiempos de exposición en las cámaras y con ello al uso de trípodes.

3. EVALUACIÓN DE OBRAS PICTÓRICAS SOBRE LIENZO

3.1. Cartografiado de la obra

Una de las aplicaciones más directas del análisis digital de la imagen pasa por el cartografiado de la obra artística. Proceso que tiene como objetivo agrupar cada pixel de la imagen multibanda (entendiéndose como el conjunto de imágenes digitales capturadas en los diferentes espectros tratados) en una clase de acuerdo a la similitud entre este y el resto de miembros de esa clase [5]. Dicho proceso, puede ser efectuado a través de un Análisis de Componentes Principales (PCA) [2, 4] o a través de procedimientos de clusterización basados en el enfoque K-medias [1] o el algoritmo Spectral Angle Mapper [3], dando lugar a una nueva imagen que permitirá analizar el porcentaje presente de cada clase, así como su distribución espacial en la obra. Ejemplos de la potencialidad de este cartografiado pueden encontrarse en los trabajos realizados por Daveri *et al.* [4] a través del uso de una imagen multibanda compuesta por espectros que oscilan desde los 2700 nm a los 5000 nm y Daniel *et al.* [3] con estudios en regiones desde los 400 nm a los 1000 nm (Fig. 2).



Fig. 2. Resultados del cartografiado de la obra "Retrato de un hombre con sombrero": a) falso color con la banda del infrarrojo cercano y; b) clusterización de píxeles en 7 clases: azul correspondiente al rojo bermellón; negro correspondiente a pigmentos negro carbón, rojo y verde correspondiente a una mezcla bermellón-blanco plomo, amarillo correspondiente la capa de preparación y violeta-verde oscuro correspondiente a las áreas restauradas. Adaptada de [3].

3.2. Caracterización composicional

Al igual que ocurre en otras técnicas de caracterización composicional tales como la espectroscopía Raman, el análisis de la imagen digital no solo permite el mapeado preciso de los pigmentos presentes en la obra pictórica, sino también una caracterización de estos a través de su contraste con bases de datos. Bajo esta premisa, autores como Daniel *et al.* [3] identifican composicionalmente los pigmentos de dos obras de Goya "Retrato de hombre con sombrero" y "Retrato de Francisco Bayeu", tales como el rojo bermellón, rojo ocre o el blanco plomo, a partir del contraste de la respuesta capturada en diferentes longitudes de onda (desde los 400 nm a los 1000 nm) con una base de datos con más de 150 pigmentos históricos [3]. Resultados, que son contrastado con los provistos por la aplicación de la difracción de rayos X y la espectroscopía Raman. Corroborando no solo la viabilidad del método, sino también, la necesidad de este (los autores remarcan el condicionamiento de los espectros Raman debido a la presencia de capas protectoras así como los resultados del espectro de difracción como consecuencia del alto porcentaje de plomo presente) [3].

Por otro lado, Daveri *et al.* [4] evalúa la potencialidad de la imagen hiperespectral (con rangos entre 2700 y 5000 nm) en la caracterización de las obras pictóricas de "Santi Giovanni Battista e Piero" de Jacopo Vincoli y el "Trittico di S. Maria delle Grazie" de Niccolò di Libertadore a través del análisis PCA [4]. Entre las limitaciones encontradas, destaca la dificultad de detectar óxidos, pudiendo ser esta solventada con la incorporación imágenes VIS [4].

En sus estudios sobre pigmentos históricos aplicados con goma arábiga [8], Costantino propone un enfoque alternativo a los tratados anteriormente: el árbol de decisiones. Sistema piramidal que permite de forma escalonada ir deduciendo el tipo de pigmento en función de la respuesta recogida por los diferentes espectros tratados.

4. ANÁLISIS DE PINTURAS RUPESTRES

4.1. La identificación de trazos en pinturas rupestres

En paralelo a los trabajos experimentales anteriormente mostrados, es posible encontrar un amplio grupo de autores que trasladan la potencialidad de esta técnica a las pinturas rupestres [1, 2]. Una de las principales diferencias

a destacar entre los trabajos efectuados sobre pintura en lienzo y los efectuados sobre pinturas rupestre reside en el simple uso, en gran parte de las ocasiones, de la imagen VIS y los métodos de mejora de visualización (principalmente métodos basados en el ensalce de los componentes no correlados entre los canales del visible) como únicos ingredientes para el análisis de los trazos [2, 7] (Fig. 3a). Más allá de estos métodos, encontramos trabajos donde emplean rangos del espectro más amplios, principalmente IR, dada su contribución a la hora de detectar trazos [2], así como métodos de clasificación no-supervisada que tratan de agrupar cada uno de los píxeles de la imagen en un número determinado de clases [1, 2]. Sin embargo, la propia topología del sustrato rocoso tiende a generar sombras que entorpecen los resultados de la clasificación (Fig. 3b) [1].

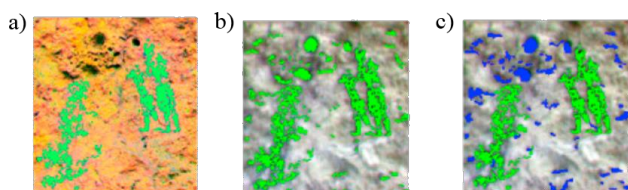


Fig. 3. Identificación de trazos sobre pinturas rupestres: a) imagen VIS ensalzada; b) imagen multispectral clasificada con el algoritmo Fuzzy k-medias y; c) imagen multispectral con información geométrica clasificada con Fuzzy k-medias. En verde los trazos, en azul las anomalías detectadas en el sustrato. Adaptada de [1].

4.2. Hibridación de componentes radiométricos y geométricos

Una de las características más representativas del arte rupestre reside en las propiedades del sustrato sobre el cual se efectúa. Dicho sustrato, el cual suele situarse a menudo en espacios en contacto con el ambiente exterior, tiende a presentar fenómenos de alveolización o agrietamiento [1]. Bajo esta premisa, autores como Torres Martínez *et al.* [1] proponen la hibridación de componentes geométricos, derivados de modelos 3D obtenidos con sistemas láser escáner o fotogramétricos, para su caracterización. Información que, combinada con el resto de datos espectrales, permite la generación de nueva capa: la capa de alteraciones (Fig. 3c), mejorando consigo los resultados a la hora de determinar los trazos.

5. CONCLUSIONES

Gracias a los últimos avances experimentados en el campo de la fotografía, capaces de permitir la captura de datos en diferentes rangos del espectro, es posible establecer un lazo de gran fuerza entre el análisis digital de la imagen y el diagnóstico y conservación de obras pictóricas. Lazo gracias al cual es posible no solo discernir los pigmentos de acuerdo a su radiometría, sino también, permitir la caracterización, a partir de bases de datos, de estos o incluso, llegar a detectar dibujos preparatorios no visible (a través del IR) o zonas de repinte (mediante el uso de radiación UV).

Ahora bien, detrás de ese telón de ventajas capaz de ofrecer el análisis digital de la imagen, las campañas experi-

mentales evaluadas en el presente artículo señalan la dificultad de discernir con cierto grado de certeza partes en las cuales existen altas heterogeneidades (compuestas por la superposición de pigmentos y/o bases preparatorias), hecho que requiere de forma ineludible el uso de un gran número de imágenes así como del desarrollo de bases de datos que engloben las diferentes casuísticas al igual que ocurre con la espectroscopía.

REFERENCIAS

- [1] J. A. Torres-Martínez, L. J. Sánchez-Aparicio, D. Hernández-López, and D. González-Aguilera, "Combining geometrical and radiometrical features in the evaluation of rock art paintings," *Digital Applications in Archaeology and Cultural Heritage*, vol. 5, pp. 10-20, 2017/06/01/ 2017.
- [2] N. C. Noya, Á. L. García, and F. C. Ramírez, "Combining photogrammetry and photographic enhancement techniques for the recording of megalithic art in north-west Iberia," *Digital Applications in Archaeology and Cultural Heritage*, vol. 2, pp. 89-101, 2015/01/01/ 2015.
- [3] F. Daniel, A. Mounier, J. Pérez-Arantegui, C. Pardos, N. Prieto-Taboada, S. Fdez-Ortiz de Vallejuelo, *et al.*, "Hyperspectral imaging applied to the analysis of Goya paintings in the Museum of Zaragoza (Spain)," *Microchemical Journal*, vol. 126, pp. 113-120, 2016/05/01/ 2016.
- [4] A. Daveri, S. Pazziani, M. Marmion, H. Harju, A. Vidman, M. Azzarelli, *et al.*, "New perspectives in the non-invasive, in situ identification of painting materials: The advanced MWIR hyperspectral imaging," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 98, pp. 143-148, 2018/01/01/ 2018.
- [5] S. Del Pozo, L. Sánchez-Aparicio, P. Rodríguez-González, J. Herrero-Pascual, A. Muñoz-Nieto, D. González-Aguilera, *et al.*, "Multispectral Imaging: Fundamentals, Principles and Methods of Damage Assessment in Constructions," *Non-Destructive Techniques for the Evaluation of Structures and Infrastructure*, vol. 11, p. 139, 2016.
- [6] A. Cosentino, "Effects of different binders on technical photography and infrared reflectography of 54 historical pigments," *International Journal of Conservation Science*, vol. 6, 2015.
- [7] M. Á. Rogerio-Candelera, "Digital image analysis based study, recording, and protection of painted rock art. Some Iberian experiences," *Digital Applications in Archaeology and Cultural Heritage*, vol. 2, pp. 68-78, 2015/01/01/ 2015.
- [8] A. Cosentino, "Identification of pigments by multispectral imaging: a flowchart method," *Heritage Science*, vol. 2, p. 8, 2014.



Luis Javier Sánchez Aparicio: Arquitecto Técnico desde 2011 e Ingeniero de la Edificación desde 2014. Cursó el "Máster universitario en Geotecnologías aplicadas a la Ingeniería y Arquitectura" en 2012. Actualmente está cursando el "Máster Universitario de Técnicas del Patrimonio Histórico" en la Universidad Pablo de Olavide. Su actividad tanto profesional como investigadora ha estado siempre ligada a la diagnosis y detección de daños en construcciones históricas a partir de métodos fotogramétricos y láser escáner.

Reflectografía infrarroja para el examen y diagnóstico del Patrimonio Cultural

Laura Casaus Magro

Resumen—En este artículo se describe la fotografía y la reflectografía de infrarrojos como instrumentos para el conocimiento de bienes culturales de diversa naturaleza, como la pintura mueble, la pintura mural o el documento. Gracias a su capacidad de penetrar las capas más externas, los infrarrojos pueden revelarnos lo que esconde tras ellas, lo invisible a nuestros ojos.

Palabras Clave—Arte, Diagnóstico, Infrarrojo, Patrimonio, Reflectografía.

1. INTRODUCCIÓN

Las técnicas de diagnóstico de obras de arte mediante reflectografía infrarroja suponen un examen no destructivo para las obras de arte, y dan lugar a una imagen de la que puede extraerse valiosa información. Esta técnica está basada en la diferente absorción que poseen las diversas capas de la obra al someterla a la radiación infrarroja, en base a los materiales empleados en su elaboración. La infrarroja es la zona del espectro electromagnético inmediatamente inferior, en energía y frecuencia, a la luz visible. Su longitud de onda es por tanto mayor y comprende entre los 750 y los 3000 nm, si bien para estas técnicas de diagnóstico se utiliza solo el infrarrojo cercano (NIR por sus siglas en inglés). El ojo humano no percibe dicha radiación; sin embargo, los materiales interactúan con ella de diferentes maneras, según su composición: absorbiendo, reflejando, o transmitiendo parte de ella [1]. Gracias a ello, y a las técnicas que permiten su registro en una imagen, es posible llegar a “ver” las capas ocultas de una obra de arte [2].

Esta técnica de examen comenzó con la utilización de películas analógicas sensibles al infrarrojo (IR), pero las dificultades en la exposición y su escasa sensibilidad (hasta 700-900 nm) no ofrecían buenos resultados. Hoy, gracias a la fotografía digital, se obtiene una mayor información mediante el uso de la reflectografía IR, que permite un mayor rango de sensibilidad pudiendo llegar a los 1200-1700 nm [5]. Estas longitudes de onda más largas penetran a través de colores que con la fotografía IR se mostraban opacos, como es el caso del verde o el azul (debido al contenido en cobre de sus pigmentos). Para la obtención de la imagen final, la radiación visible es eliminada mediante un filtro colocado en la cámara, para que esta no interfiera (Fig. 1).

Esta técnica es aplicable a pinturas y documentos sobre varios soportes, por lo que sus aplicaciones y la información que aporte serán diferentes en cada caso.



Fig. 1: *The Magdalen* NG719, óleo sobre tabla, siglo XVI. Imagen tomada bajo el espectro visible (izquierda) e infrarrojo (derecha). Autor de la imagen: The National Gallery, Londres [10]

2. APLICACIONES

2.1. Pintura de caballete

La radiación infrarroja permite penetrar hasta la capa de preparación de una pintura, es decir, el estrato inferior a la propia capa pictórica. Por tanto, nos permite averiguar datos de la obra que se encuentran ocultos: el dibujo subyacente o diseño original del artista, cambios de idea en la composición (llamados *pentimenti* o “arrepentimientos”), si existen repintes o reparaciones ocultas o si partió de un soporte reciclado (pudiéndose encontrar, como en alguna ocasión, dos cuadros en uno porque el pintor reutilizó una vieja pintura). Además, la reflectografía IR permite certificar la autenticidad de una obra gracias al estudio del trazo del autor, detectar firmas o inscripciones previas a la pintura, o saber qué composición hay debajo de una espesa capa de suciedad antes de realizar una limpieza. Este tipo de datos quedan ocultos incluso a las técnicas radiográficas, ya que los bocetos suelen estar realizados en materiales de baja absorción de rayos X, o pigmentos diluidos; y sin embargo pueden aportarnos una valiosa información.

Veamos la estructura de una pintura mueble, ya sea sobre tabla o sobre lienzo. Sus estratos superficiales están com-

puestos por capas de protección (barnices o ceras) y la propia capa pictórica (consistente en una mezcla de pigmentos, aglutinante y cargas o aditivos). Estas capas son normalmente semitransparentes a los rayos IR, dependiendo de los pigmentos usados, por lo que permitirán la transmisión de parte de esta radiación, que pasará a la capa de preparación. Esta preparación tiene una composición diferente a la capa pictórica, y si se trata de una preparación de estuco (preparado con cola y sulfato o carbonato cálcico), reflejará casi en su totalidad la radiación IR que acaba de atravesar la pintura. Es en este estrato donde se encuentra el dibujo preparatorio, que normalmente está realizado con un compuesto de carbono (grafito, carboncillo, tinta china, pigmento negro de carbón...), y cuya absorción del infrarrojo es muy alta, por lo que se obtendrá un contraste con la reflectancia del yeso o cal del estuco. Este contraste es el que permitirá la formación de la imagen en la que se distingue el dibujo subyacente (Fig. 2). No siempre se dará un contraste perfecto, pues a partir del siglo XVII y, en especial, del uso del lienzo, la pintura pasa a ser más suelta, el dibujo no es en general tan elaborado, y comienzan a utilizarse preparaciones coloreadas (a base de pigmentos y aceite), lienzos sin preparación, u otros materiales para realizar los dibujos. Por lo tanto, el éxito de la técnica dependerá de qué combinación de materiales empleó el autor y cómo los empleó.

La imagen final obtenida por la reflectografía IR es en blanco y negro, y muestra una mezcla entre la capa pictórica (debido a la radiación que ha reflejado) y la parte reflejada por la capa de preparación, la que puede darnos una información oculta hasta entonces. De la capa pictórica, se mostrarán diferentes contrastes dependiendo de las zonas de color, por ejemplo, los rojos y amarillos reflejan más y los azules y negros absorben más la radiación IR.

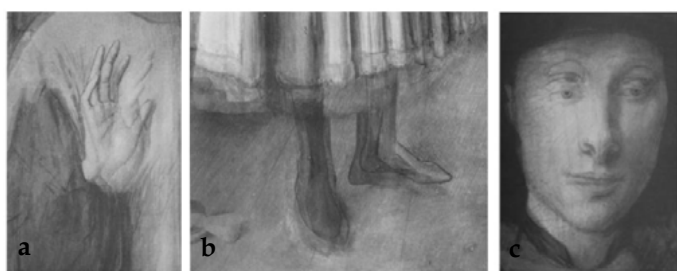


Fig. 2: Imágenes captadas mediante reflectografía IR de la obra *El Matrimonio Arnolfini* de Jan van Eyck (National Gallery, Londres). En ellas pueden observarse los cambios de composición que realizó el autor en (a) la mano, (b) los pies y (c) el rostro de Giovanni Arnolfini. Autor de las imágenes: The National Gallery, Londres [4]

2.2. Pintura mural

El examen mediante IR no es tan utilizado en este campo como en el de la pintura mueble, pero puede también proporcionar información importante para la documentación de la obra, debido al distinto comportamiento de los materiales a la radiación IR según su composición. Así, las técnicas infrarrojas nos permiten también diferenciar pigmentos que parecen del mismo color bajo la luz visible pero que, por su composición, se comportan diferente a la

radiación infrarroja, como el caso del azul ultramar y la azurita (Fig. 3). Si el ultramar es auténtico, es decir, obtenido de la molienda de la piedra lapislázuli, se muestra transparente al infrarrojo; la azurita sin embargo es muy opaca a él [3].

También de esta manera es posible distinguir repintes o falsificaciones, o esclarecer qué técnicas empleó el autor.

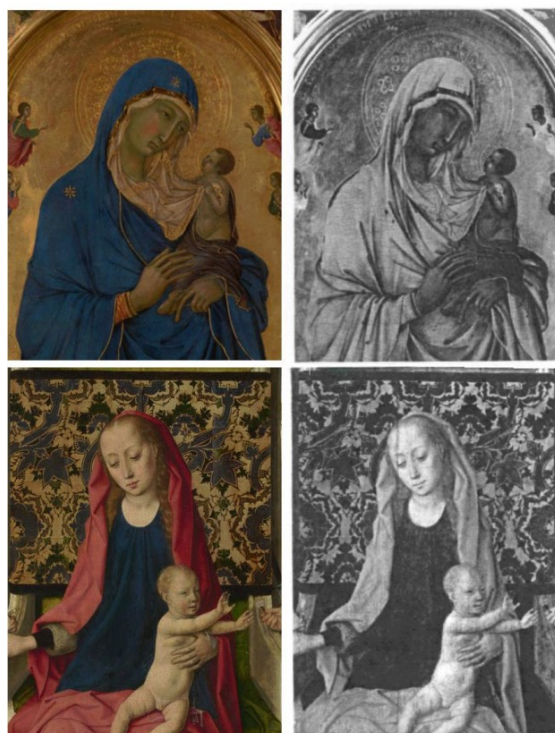


Fig. 3: Arriba, *Madonna con el Niño*, de Duccio di Buoninsegna, en donde el manto de la Virgen está realizado con azul ultramar (lapislázuli) y por tanto muestra transparencia a la radiación infrarroja (color claro en el reflectograma). Abajo, *Madonna con el Niño* de Dirk Bouts, en donde el manto de la Virgen está realizado con el pigmento azurita, muy absorbente del IR (color oscuro en el reflectograma). Autores de las imágenes: J. Plesters y National Gallery [4]

En el ámbito de la pintura mural, se está desarrollando un nuevo sistema llamado Thermal Quasi-Reflectography (TQR) basado en la captación del IR medio que reflejan las pinturas, para determinar repintes y antiguas intervenciones, consiguiendo detectar características que no se revelan con el NIR (a mayor longitud de onda, menor dispersión). Como puede observarse en la figura 4, en la que la técnica TQR nos muestra cómo fueron repintados los bordes de las armaduras al perderse el oro original. [7]

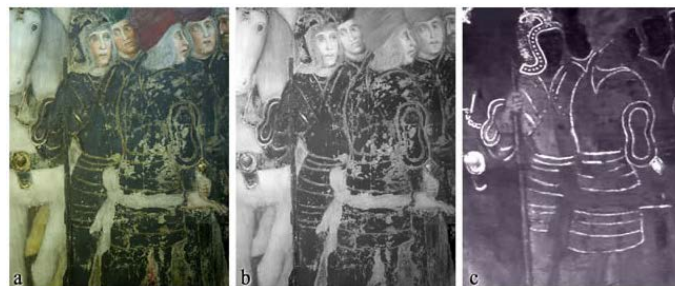


Fig. 4: Imágenes bajo luz visible (a), Infrarrojo cercano (b) y TQR (c) de un detalle de los frescos de Zavattari en la Capilla Teodolinda (Duomo de Monza). Autores de las imágenes: C. Daffara et al. [7]

2.3. Documentos

El examen mediante técnicas infrarrojas no es aplicable solo a pinturas; también es posible datar o autenticar documentos sin necesidad de toma de muestras, e incluso descifrar información oculta de documentos que han sido borrados, quemados o degradados gracias a su estudio con dicha radiación. Es, por ejemplo, el caso de los palimpsestos: manuscritos que antiguamente eran lavados o raspados para reutilizar el material, debido a la escasez o alto coste que tenían los soportes de escritura como el pergamino, el papel o el cuero. Estos textos son imperceptibles para nuestra visión, por lo que se podrían considerarse perdidos, pero es posible recuperarlos mediante el uso de infrarrojos. Es el caso del Palimpsesto de Arquímedes (Fig. 5), un códice en pergamino de contenido religioso, realizado en el siglo XII, y que gracias a las técnicas multispectrales -IR, UV y rayos X- reveló un texto en griego aún más antiguo, que contenía copias de obras de la Antigüedad que se creían perdidas.

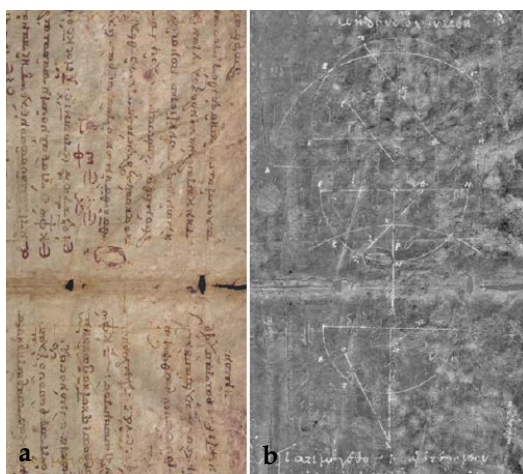


Fig. 5: Palimpsesto de Arquímedes, imagen del documento iluminado con luz visible (a) y fotografiado con radiación IR (b). Autor de la imagen: The Archimedes Palimpsest Project [9]

¿Cómo es esto posible? Las plantas absorben casi toda la luz visible (excepto la franja verde, responsable de que las veamos de ese color); sin embargo, refleja ampliamente la infrarroja, aunque el ojo humano no pueda verlo. Es por ello que muchas tintas, antiguamente elaboradas con colorantes vegetales o de insectos, tendrán una alta reflectancia infrarroja, permitiendo ver incluso trazos que se muestran totalmente descoloridos. Gracias al infrarrojo cercano es posible diferenciar entre un colorante y un pigmento que a simple vista son indiferenciables. Por ejemplo, las tintas ferrotánicas no tienen respuesta en el infrarrojo, por lo que no son detectadas por la reflectografía [8].

En combinación con la espectroscopía Raman, la radiación infrarroja está siendo empleada para estudiar tintas medievales elaboradas con carbón y también metaloácidas [6] e incluso recuperar textos en documentos quemados.

3. CONCLUSIONES

Las técnicas de estudio mediante radiación infrarroja y su combinación con otras técnicas (estudios multispectrales), abren todo un abanico de posibilidades al explorar las capas subyacentes de las obras de arte. Gracias a estos exámenes, es posible hoy determinar qué materiales o técnicas utilizó un autor, estudiar su trazo más personal mediante el descubrimiento de los dibujos subyacentes, distinguir entre pigmentos que se muestran iguales en el espectro visible, diferenciar intervenciones posteriores al original, o poner en valor información que fue tapada... La mejor noticia es que esta técnica, la única desarrollada específicamente para el estudio del Patrimonio, no deja de avanzar.

REFERENCIAS

- [1] R. Figueiredo Viegas, "Compositional characterization of iron gall inks in manuscripts using non-destructive techniques", Master dissertation, Engineering Physics, Instituto Superior Técnico de Lisboa, 2014.
- [2] A. Gabaldón, "Técnicas de análisis físico: radiografía y reflectografía de infrarrojo, aplicadas al estudio de los bienes muebles", *Arbor* (Vol. 164) pp. 27-42; Madrid, Iss. 645, 1999]
- [3] A. Cosentino, "Ultramarine. One pigment, many qualities", 10 april 2013, <http://chsopensource.org/2013/04/10/ultramarine/> Fecha de consulta: 12 febrero 2018
- [4] O. González, "Visión infrarroja", *Cultura Científica*, <https://culturacientifica.com/2015/12/21/vision-infrarroja/> Fecha de consulta: 7 febrero 2018
- [5] S. Michalski, "Luz visible, radiación Ultravioleta e Infrarroja", *Canadian Conservation Institute*, Canadá, 2009.
- [6] A. Psarrou, A. Licata, V. Kokla. and A. Tselikas, "Near-Infrared Ink Differentiation in Medieval Manuscripts", *International Journal of Computer Vision* (Vol. 94), Issue 1, pp 136-151, 2011.
- [7] C. Daffara, D. Ambrosini, L. Pezzati and D. Paoletti, "Thermal Quasi-reflectography: a new imaging tool in art conservation," *Optics Express*, Vol. 20, Issue 13, pp. 14746-14753, 2012.
- [8] T. Antelo, M. Bueso, A. Gabaldón and C. Vega, "Un espacio para lo invisible", *La Ciencia y el Arte*, Vol 1, IPHE, Ministerio de Cultura, Madrid.
- [9] The Archimedes Palimpsest Project, "Multi-spectral imaging of the archimedes palimpsest", <http://archimedespalimpsest.org/about/imaging/> Fecha de consulta: 10 febrero 2018
- [10] Web de Opus Instruments, <https://www.opusinstruments.com/> Fecha de consulta: 13 febrero 2018



Laura Casaus Magro es Conservadora-Restauradora de Bienes Culturales por la Escuela Superior de Madrid. Tras una beca formativa en Italia, ha trabajado como restauradora de pintura y documento gráfico en proyectos de varios países, incluyendo España, Portugal, Italia y Chile. Su especialidad son las técnicas pictóricas sobre diversos soportes, disciplina de la cual fue docente en el Instituto Mexicano de Curaduría y Restauración. Actualmente cursa el Máster en Diagnóstico del Estado de

Conservación del Patrimonio Histórico en la Universidad Pablo de Olavide.

Environmental applications of Sonochemistry

Daniel León Perrián, Enrique Lozano Sánchez, Julia Morilla Ortega, Inés Sanchez Romero, Julia Torres Rivera

Summary—The creation of new environmentally-friendly processes is currently under study. In this article, we review the bases of sonochemistry, its main environmental applications and how it can be extended to the industrial field.

Keywords— Sonochemistry, Environment, Nuclear Waste, Biodiesel, Microorganisms, Metal ions



1. INTRODUCTION

The study of sonochemistry is a relatively new branch of chemistry, which involves the use of ultrasound to drive chemical reactions [1], enhancing their chemical activity. This is so because when irradiating molecules with high intensity ultrasound, acoustic cavitation is produced on those molecules. Cavitation is the formation of bubbles or voids on a liquid when it is exposed to certain forces, normally rapid changes in pressure, causing bubble formation, collapse and hot spots as well as high pressures at certain points, that are able to drive chemical reactions- even those of high energy. [2]

Sonochemistry has not been the subject of much attention until recently, although it is a great alternative to some industrial processes. Some of the reasons why those techniques are not fully developed yet- or they are not so used by scientists and researchers- are their economic feasibility and the high energy intensities involved. [3]

As a green science, and as a way of protecting the environment, sonochemistry is actually a link between different sciences, such as physics, chemistry or even engineering. There are plenty of ways in which sonochemistry can be used to look for cleaner synthetic routes, production of low pollution fuels, as well as applications closer to the clean-up of the environment, such as atmosphere decontamination [4]. The involvement of sonochemistry with environment also involves eco-friendly design and fabrication methods, as in the case of the synthesis of nanomaterials and electrocatalysts for electrochemical applications [2].

As mentioned above, sonochemistry may also be used for removal of pollutants from the environment, especially organic molecules, because of their toxicity and long half-life. By exposing pollutants to ultrasonic irradiation, they become oxidized, a process that depends on the energetic hydroxyl radical formation, among others [5].

However, environmental sonochemistry can only exist if techniques are advanced in improving the generation of useful acoustic energy, facilitating chemical reactivity and remediation. Hence, some environmental remediation studies are being performed using pulsed ultrasound rather than continuous ultrasonic sources [1], in order to improve the efficiency. Nowadays, many efforts have been also devoted to explore the possibilities of coupling ultrasound energy with other free energy sources, or biological treatments [3].

In general, the future contribution of sonochemistry processes to the protection of the environment and green sciences depends on a widening of industrial uses [4].

2. SONOCHEMISTRY TO PRODUCE BIODIESEL

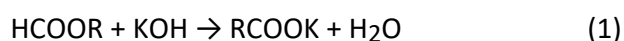
Nowadays the world supplies much of its energy needs through non-renewable sources such as fossil fuels: coal, natural gas, oils. However, the environmental crisis that our society is facing due to the effect of the over-exploitation and continued use of these resources

has brought to the forefront the importance of developing new alternative techniques to reduce pollutant agents.

The appearance of biodiesel has shown that it is possible to obtain fuels that are less contaminant than petroleum-based ones, since it is biodegradable and non-toxic and reduces emissions. Nevertheless, if biodiesel production and commercialization have not been significant nor of importance these days it is because of economical and practical issues. [6]

2.1. Methods

The generation of biodiesel takes place through a transesterification reaction between vegetable oils or waste cooking oil (WCO) and alcohols such as methanol, to produce Fatty Acid Alkyl Esters in the presence of a catalyst, such as potassium hydroxide: Veg Oil + 3 Methanol \rightarrow 3 Biodiesel + Glycerol. It is important to take into account that the concentration of the catalyst should not be above 1.25 wt.%, since there is a side reaction of saponification (see reaction 1) that may happen concurrently. It happens due to the use of KOH as a catalyst, which is an alkaline compound. Appropriate concentrations are approximately of 1 wt.% [7],[8].



The method to yield biodiesel using sonochemistry consists on the employment of a reactor in which an ultrasound probe is immersed (see Figure 1). This reactor has a valve to introduce the reactants and a vent to collect the product. The probe has a frequency of 20 kHz and it is connected to a transducer which is controlled by the ultrasound generator. A condenser is used as well to reduce methanol losses. It is important that during this procedure, the temperature inside the reactor is measured. This can be done by inserting a thermocouple into the reactor [3].

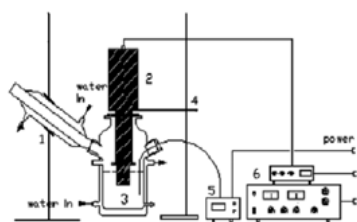


Figure 1: Sonochemical reactor: 1. Condenser, 2. Transducers, 3. Reactor, 4. Stand support, 5. Temperature sensor, 6. Ultrasonic generator [8].

The oil and the alcohol catalyst mixture are introduced in the reactor through the inlet. The condenser and thermocouple are inserted along with the ultrasound probe. Once this is done, the reaction conditions must be set on the generator. At this point the transesterification reaction will take place inside the reactor for about 40 minutes.

Once the reaction is completed, the product, consisting of the fatty acids of methyl esters (FAME) plus glycerol is taken out. The result are two layers, being the upper one the FAME and the bottom one the glycerol. It may also contain part of the methanol that has not reacted so in order to purify the product, it must be removed through distillation. This part of the procedure only applies to the upper layer, where the methanol is vaporized and condensed back into the receiver. The recovery of methanol can be considered as a recycling step for further operations. [8,9].

2.2. Challenges

The study of sonochemistry applications has allowed us to discover new choices for the production of biodiesel which are not only more efficient, but also have a lower impact on the environment. It is clear that ultrasound reactors enhance the formation of biodiesel in comparison to the conventional heating and stirring method, but analysis of the procedure show us that there are some problems to be solved: high separation times, high operating cost, high energy consumption, and low production efficiency due to equilibrium limitations. The latter is explained through the molar ratios of methanol to oil. The theoretical ratio is, as mentioned previously, 3:1. However, as reported in different works, increasing the molar ratios from 3:1 to 7:1, increases the rate of biodiesel production as well, from 46% to 87%. These results were attributed to the higher cavitation intensity due to the presence of higher quantities of methanol in the system [8].

3. NUCLEAR INDUSTRY APPLICATIONS

Currently, in the nuclear industry, there is a need for enhancements to uranium ore leaching, its refining, pu-

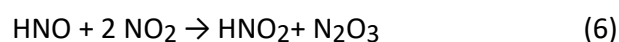
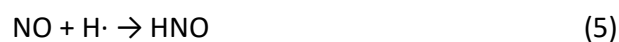
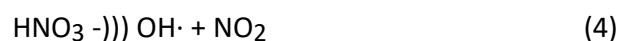
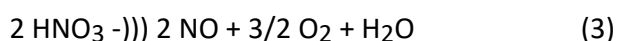
rification system efficiency in power production processes, and spent fuel reprocessing. Here we will focus on power production and fuel reprocessing enhancements by sonochemistry.

3.1. Power Production Methods

Fast reactor cooling processes are critical when we refer to nuclear power production. One example of these nuclear systems is Lead Bismuth Eutectic (LBE) cooled reactor technology, which may take principles from treatments of light alloy melts using ultrasound. LBE requires an adequate, constant oxygen concentration: if it is too low, some components may detach and the structural material may undergo erosion. If it is too high, the lead will oxidize and precipitate causing obstructions to flow [10,11]. The usage of sonochemistry in LBE shows several positive effects, since it allows to increase the reduction reaction rate of PbO (increasing gas usage efficiency), dissolved oxygen can be associated and liberated at free surfaces and, as a result, LBE cleaning time is potentially reduced [12,13].

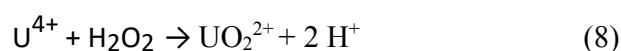
3.2. Spent Fuel Reprocessing Methods

The final step of nuclear fuel cycle is the perpetual geological repository of Used Nuclear Fuel (UNF). This procedure can be enhanced by applying sonochemistry, which decreases the time required for the chemical processes. As a reprocessing method, Plutonium Uranium Redox Extraction (PUREX) is an aqueous chemical process that separates Pu and U: fuel is dissolved in 10M nitric acid (HNO₃) at high temperatures, in a very slow process. When that process finishes, tri-butyl phosphate is added to allow the separation of Pu and U [14]. Sonochemistry would allow to increase the efficiency of this process by lowering both time and the HNO₃ concentration needed. The redox behaviour of actinide ions in this medium depends on nitrous acid (HNO₂). In this case, HNO₂ production from HNO₃ proceeds via the following mechanism:



where $\xrightarrow{\text{ultrasound}}$ refers to the ultrasound irradiation.

It was shown that the sonolysis of U(IV) in relatively diluted HNO₃ solutions causes its autocatalytic oxidation to U(VI). In more concentrated HNO₃ solutions sonochemically induced oxidation of U(IV) follows the first-order kinetic law on U(IV) concentration similar to that without ultrasound [15]. In the absence of ultrasound, U(IV) oxidation by hydrogen peroxide (H₂O₂) follows first-order kinetics with respect to U(IV). In the presence of ultrasound, the following reaction takes place



this relatively slow reaction (8), limited by H₂O₂ formation stage from sonicated HNO₃, follows zero-order kinetics. U(VI) can be reduced to U(IV) in 3M HNO₃ solutions in the presence of 20%Vol 2-propanol, 1%Vol N₂H₅⁺, and Pt black particles under 600 kHz ultrasound. Sonochemistry accelerates the reduction of U(VI) with N₂H₅⁺ when catalysed by Pt and with 2-propanol acting as an inhibitor for H₂O₂ formation [16].

3.3. Challenges

As we have seen, nuclear application of high powered ultrasonics is full of possibilities, but there are some challenges to the application of sonochemistry to this field. They refer, especially, to material compatibility (between reactors and horns or transducers) due to expected erosion caused by localized cavitation, and high radiation and temperature doses that may cause failure in mechanisms. Indirect sonication, which involves the transmission of ultrasonic energy through

the water into sample tubes, presents some solutions to these issues, but higher ultrasonic intensities have to be used.

4. METAL RECOVERY FROM AQUEOUS SOLUTIONS

Another application of sonochemistry could be its use to metal recovery processes. In fact, metal recovery from aqueous waste stream is, currently, an important goal for recycling, mining industries and agriculture, because of its impact against the environment. The development of more effective methods of recovery have been of increasing interest due to the fact of the increased levels of contaminated water [17,19].

4.1. Methods

Metal recovery methods can be categorized into two major groups: physical and chemical processes. **Physical processes** separate liquid from solid phase in a mixture, which can be accomplished in a variety of ways such as filtration and/or coagulation. **Chemical methods** operate by causing chemical or electrochemical reactions of metal solutions or by changing the solubility limit of dissolved species[18].

In this case, the employment of sono-electrochemical technique at megasonic frequencies (around 500 kHz or 1 MHz) in conjunction with electrochemistry enhances recovery of selected ions with widely differing redox potential from their aqueous solutions[20]. Electrochemical potentials were applied in the range where hydrogen gas is produced, which was stabilized in the form of oscillating bubbles using the megasonic field. The extreme temperatures and highly reducing environments inside the bubbles were used for the reduction of the metal ions to their zero-state solid form.

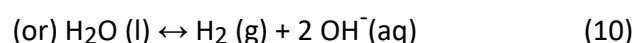
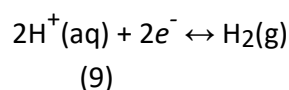
As an example, we have selected palladium (Pd), lead (Pb) and gallium (Ga), which have important industrial applications, and are finite sources, so their recovery is needed.

The magnitude of the electrical potential needed for recovery of the three metals increased in the following order: Ga > Pb > Pd, which also indicates the order of metal recovery (see Table 1)

Table 1

Half reaction	E ₀ (V) (NHE)
$\text{Pd}^{2+} + 2e^- \rightarrow \text{Pd (s)}$	+0.987
$\text{Pb}^{2+} + 2e^- \rightarrow \text{Pb (s)}$	-0.126
$\text{Ga}^{3+} + 3e^- \rightarrow \text{Ga (s)}$	-0.530

The method utilizes the principle of both electrochemistry and acoustics for the formation of zero valent metal particles from their soluble species [20]. The role of electrochemistry is to generate hydrogen gas (from reduction of water or hydrogen ion) by applying a suitable potential to a substrate as platinum, vitreous carbon or copper immersed in aqueous solution containing soluble metal/metalloid species. The half reaction on the working (cathodic) electrode can be expressed as:



The hydrogen gas generated is stabilized in the form of oscillating bubbles by acoustic and electrochemical parameters. The soluble metal/metalloid ions reduce at the interface of the hydrogen filled bubbles under highly reducing environment (due to formation of hydrogen radicals) under extreme temperatures.

4.2. Challenges

The use of the method explained before leads to significant results: it could be seen that sono-electrochemical method was found to be effective and efficient for removal and/or recovery of soluble metal species from aqueous solutions. However, the reduction of metal ions likely occurs on the hydrogen-bubble/liquid interface, where extreme temperature and reducing environment are generated during bubble oscillations.

5. MICROORGANISMS TREATMENT

One of the most interesting applications of sonochemistry is its role as an efficient wastewater treatment for pollution removal. This capacity has been of great interest since the 1920s when studies of Harvey and Loomis were published[21], describing the effect of ultrasound upon bacteria.

Ultrasound can either kill microorganisms by itself or increase the efficiency of other killing methods, such as biocides or ultraviolet irradiation. The disinfectant capacity of sonication comes from the combination of chemical and physical changes that occur during the phenomenon of acoustic cavitation, among which we can find a rapid increase in temperature and pressure which can lead to microorganism inactivation. [23]

We will focus on bacterial removal although many other microorganisms such as algae and nematode have been also proved to be affected by sonication.

5.1. Methods

Bacterial ultrasonic treatment can lead to its inactivation through a series of processes. These processes include the bubble formation near the bacterial cell wall, which causes cell damage by mechanical stress, and the formation of radicals during sonication in water that causes a chemical attack upon the cell wall, leading to its disintegration. One of the products that is formed is H_2O_2 which can cause severe damage to the bacterial cells. [23]

It has been demonstrated that the application of ultrasound increases its effectiveness when increasing the application time. For example, if we treat fecal coliforms with 42 kHz for less than 20 minutes, there is almost no effect, but if we increase the application time we start to appreciate a significant killing rate.[21] In the case of large cell volumes, at first, we observe an increase in the number due to decoupling of the bacteria, but when this process finishes the number starts to fall, suggesting an increase in the killing rate. Also, the

type of bacteria will affect the effectiveness of the process. If we treat gram-negative and gram-positive bacteria with high energy ultrasound (24 kHz) we observe different killing rates. Applying 1500 W/L for 60 min, we obtain a mean destruction of gram-negative bacteria such as total coliforms of 99,5% while, in the case of gram-positive bacteria it is around 66%.[22] This can be caused by the larger resistance of gram-positive cell wall, since in gram-negatives the cell wall is much thinner.

5.2. Challenges

Sonication is a promising tool to kill microorganisms present in water, since it has a higher effectiveness than other common methods such as heating. Also, it is not very much affected by the wastewater quality or the presence of other solid particles, which usually decrease the efficiency of other killing processes. However, it is still not very much used because of the little understanding of the mechanisms by which ultrasound interacts with the microorganisms, and because of the high energy requirement of the process, which makes difficult its commercialization.

6. CONCLUSIONS

The environmental applications and sonochemical methods discussed in this paper are, in general, feasible in the laboratory, that is, as small-scale procedures. The future of these techniques leading to a greener chemical industry is really promising. However, if we think about rising it up to a large-scale or industrial level, sonochemistry may be a real alternative to current methods. Some challenges remain, like material compatibility, economic performance or high energy requirements due to the massive application of ultrasound.

REFERENCES

- [1] D. J. Casadonte Jr., M. Flores & C. Petrier (2005): The Use of Pulsed Ultrasound Technology to improve Environmental Remediation: A Comparative Study, *Environmental Technology*, 26:12, 1411-1418
- [2] C. Okoli, K.A. Kuttiyiel, J. Cole, J. McCutchen, H. Tawfik, R.R. Adzic & D. Mahajan (2017): Solvent effect in sonochemical synthesis of metal-alloy nanoparticles for use as electrocatalysts, *Ultrasonics Sonochemistry*, 41: 427-434
- [3] Y.G. Adewuyi (2005): Sonochemistry in environmental remediation. 1. Combinative and hybrid sonophotocatalytic oxidation processes for the treatment of pollutants in water, *Environmental Technology*, 39:10, 3409-3420
- [4] T.J. Mason (2007): Sonochemistry and the environment - providing a "green" link between chemistry, physics and engineering, *Ultrasonics Sonochemistry*, 14:4, 476-483
- [5] R.A. Shrestha, T.D. Pham & M. Sillanpää (2009): Effect of ultrasound on removal of persistent organic pollutants (POPs) from different types of soils, *J. Hazard Mater*, 170(2-3): 871-875
- [6] G. L. Maddikeri, A. B. Pandit, and P. R. Gogate, "Intensification Approaches for Biodiesel Synthesis from Waste Cooking Oil: A Review," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 51, no. 45, pp. 14610–14628, Nov. 2012.
- [7] M. N. Hussain and I. Janajreh, "Acousto-chemical analysis in multi-transducer sonochemical reactors for biodiesel production," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 40, no. May 2017, pp. 184–193, 2018.
- [8] S. M. Hingu, P. R. Gogate, and V. K. Rathod, "Synthesis of biodiesel from waste cooking oil using sonochemical reactors," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 17, no. 5, pp. 827–832, 2010.
- [9] N. S. Topare, K. D. Patil, P. Naik, A. Sonawane, and P. Joshi, "Application of Ultrasound for Synthesis of Biodiesel Application of Ultrasound for Synthesis of Biodiesel," no. JANUARY, pp. 0–8, 2015.
- [10] M. Caro, K. Woloshun, F. Rubio, S.A. Maloy, P. Hosemann, Heavy liquid metal corrosion of structural materials in advanced nuclear systems, *JOM* 65 (2013) 1057–1066, <http://dx.doi.org/10.1007/s11837-013-0663-7>.
- [11] A. Marino, J. Lim, S. Keijers, J. van den Bosch, J. Deconinck, F. Rubio, et al., Temperature dependence of dissolution rate of a lead oxide mass exchanger in lead-bismuth eutectic, *J. Nucl. mater.* 450 (2014) 270–277, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnucmat.2013.12.023>.
- [12] J. Zhang, N. Li, Y. Chen, Oxygen control technique in molten lead and lead-bismuth eutectic systems, *Nucl. Sci. Eng.* 154 (2006) 223–232.
- [13] F. Rubio, E. D. Blandford, and L. J. Bond, "Survey of advanced nuclear technologies for potential applications of sonoprocessing," *Ultrasonics*, vol. 71, pp. 211–222, 2016.
- [14] M. Benedict, T.H. Pigford, H.W. Levi, *Nuclear Chemical Engineering*, McGraw-Hill, 1981.
- [15] T. Toraiishi, T. Kimura, M. Arisaka, Toward innovative actinide separation processes: sequential reduction scheme of uranium, neptunium, and plutonium in 3M HNO₃ by external ultrasound irradiation, *J. Nucl. Sci. Technol.* 44 (2007) 1220–1226
- [16] S. I. Nikitenko, L. Venault, R. Pflieger, T. Chave, I. Bisel, and P. Moisy, "Ultrasonics Sonochemistry Potential applications of sonochemistry in spent nuclear fuel reprocessing : A short review," *Ultrason. - Sonochemistry*, vol. 17, no. 6, pp. 1033–1040, 2010.
- [17] F. Fu, Q. Wang, Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review, *J. Environ. Manage.* 92 (2011) 407–418.
- [18] T.A. Kurniawan, G.Y. Chan, W.-H. Lo, S. Babel, Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals, *Chem. Eng. J.* 118 (2006) 83–98. H.
- [19] K. Jüttner, U. Galla, H. Schmieder, Electrochemical approaches to environmental problems in the process industry, *Electrochim. Acta* 45 (2000) 2575–2594.
- [20] Dong, B. et al. Sono-electrochemical recovery of metal ions from their aqueous solutions. *J. Hazard. Mater.* 318, 379–387 (2016).
- [21] A. Mahvi, "Application of Ultrasonic Technology for Water and Wastewater Treatment," *Iran. J. Publ. Heal.*, vol. 38, no. 2, pp. 1–17, 2009.
- [22] S. Drakopoulou, S. Terzakis, M. S. Fountoulakis, D. Mantzavinos, and T. Manios, "Ultrasound-induced inactivation of gram-negative and gram-positive bacteria in secondary treated municipal wastewater," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 16, no. 5, pp. 629–634, 2009.
- [23] E. Joyce, S. S. Phull, J. P. Lorimer, and T. J. Mason, "The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency, power and sonication time on cultured *Bacillus* species," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 10, no. 6, pp. 315–318, 2003.



Daniel León, Enrique Lozano, Julia Morilla, Inés Sánchez and Julia Torres are 2nd year biotechnology students from UPO.

Fitotóxicos como alternativa a herbicidas contaminantes

Alejandro Ronco Campaña

Resumen— Actualmente existen dos principales problemas con el uso masificado de herbicidas. La aparición de plantas resistentes a dichos compuestos, y la contaminación de los compartimentos naturales. Como posible solución a estos problemas se plantean los fitotóxicos naturales, destacando dentro de estos la familia de los de los ácidos benzohidroxámicos. En particular se ha prestado especial atención al D-DIBOA por sus propiedades alelopáticas y su comprobada biodegradabilidad tanto en el medio acuático como en el suelo. Se ha conseguido llevar a cabo su síntesis mediante una biotransformación con *E. coli* y se ha caracterizado enzimáticamente dicho proceso. Actualmente se está investigando en la optimización del mismo.

Palabras Claves— Alelopatía, Biotransformación, D-DIBOA, Fitotóxico, Química verde.

1. INTRODUCCIÓN

Los fitotóxicos son aquellos compuestos, de origen natural o antropogénico, que impiden el normal crecimiento y desarrollo de uno o más tipos de plantas cuando estas son expuestas a una dosis determinada de dicho compuesto, pudiendo llegar a provocar la muerte del vegetal.

Generalmente impiden que la planta lleve a cabo alguna función metabólica esencial, como puede ser la inhibición de la fotosíntesis mediante la alteración de los fotosistemas. En el caso de los fitotóxicos naturales, éstos suelen ser producidos por distintos organismos, entre los que destacan las propias plantas que los generan como mecanismo de defensa.

Por tal motivo, estos compuestos se emplean como herbicidas, principalmente en el ámbito de la agricultura. Desde finales del siglo XX, los avances en este campo han permitido incrementar la producción de los cultivos, destacando el desarrollo de herbicidas que fueran selectivos frente a las malas hierbas y que no afectasen al cultivo de interés.

Este ha sido un campo de aplicación de la biotecnología, que se ha centrado en la modificación genética de organismos, dotando a las plantas cultivadas de resistencia al fitotóxico, y en la producción de nuevos compuestos mediante biotransformación o biosíntesis.

Sin embargo, la aplicación masiva de herbicidas ha acabado provocando la aparición de biotipos de malas hierbas inmunes a la acción de éstos. Esto se debe al desarrollo del fenómeno de resistencia, por el cual a causa de una mutación aleatoria un individuo es capaz de sobrevivir a la exposición de una dosis de herbicida que sería letal para su especie. La resistencia puede deberse a una mutación estructural en la enzima que de forma normal se ve afectada por el herbicida. En el caso de ser heredable dicha mutación, tendrá lugar una selección positiva en favor de aquellos individuos que la presenten y, por consi-

guiente, irá aumentando su número dentro de la población silvestre. Al final la abundancia de los mutantes será tan grande que el herbicida que se empleaba inicialmente resultará inútil [1]. Este hecho plantea la necesidad de desarrollar nuevos herbicidas que sean capaces de actuar sobre las plantas resistentes, permitiendo así controlar su población. Para ello, es conveniente que estos nuevos fitotóxicos sean selectivos y actúen sobre mecanismos distintos a los que afectaban los herbicidas iniciales frente a los que se desarrolló la resistencia.

Por otro lado, gran parte de los herbicidas que se usaban comúnmente hasta hace relativamente poco tiempo presentaban un gran impacto en el medio ambiente, a causa de la acción inespecífica de estos compuestos sobre el resto de especies y compartimentos que componen el ecosistema. Su presencia puede causar que los seres vivos en-

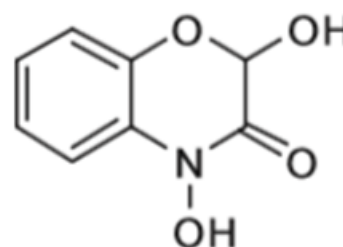


Fig. 1. Estructura química del DIBOA natural.

fermen o mueran dependiendo de su toxicidad, y dependiendo de su persistencia puede acumularse en el suelo, las aguas y los propios seres vivos dándose la biomagnificación [1]. Para evitar esto es preciso desarrollar una nueva generación de pesticidas que sean degradables por la propia autodepuración del sistema de forma rápida e inocua. Los fitotóxicos naturales se presentan como una posible solución.

Dentro de estos destaca la familia de los ácidos benzohidroxámicos. Este conjunto de químicos presenta como estructura principal el esqueleto (2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona.

Dichos ácidos benzohidroxámicos se encuentran de forma

normal en la naturaleza, concretamente son producidos por un amplio grupo de plantas, pertenecientes a las familias *Scrophlariaceae*, *Gramineae*, *Ranunculaceae* o *Poaceae* [2], [3]. En general dichos químicos presentan diferentes propiedades alelopáticas.

Según el Primer Congreso Mundial de Alelopatía celebrado en Cádiz en 1996, la alelopatía consiste en cualquier proceso en el cual estén involucrados metabolitos secundarios producidos por plantas, algas, bacterias u hongos, que influyan sobre el crecimiento y desarrollo de otros sistemas biológicos [4], [5].

El 4-hidroxi-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona, o D-DIBOA, destaca por su acción fitotóxica, fungicida, antimicrobiana e insecticida [6], [7], [8], [9], por lo que existe un gran interés en el desarrollo de su producción de forma eficiente y la aplicación de este y sus derivados, puesto que, ante ambos problemas anteriormente mencionados, el D-DIBOA se presenta como una posible solución por dos motivos. Puede servir como base para el desarrollo de nuevos herbicidas, puesto que se considera como la estructura más prometedora a la hora de la búsqueda de nuevos compuestos basados en el esqueleto de las benzoxacinonas [10]. Un ejemplo de esto son los estudios que se han realizado con algunos de sus derivados, de entre los cuales destacan el 6-Cl-4-hidroxi-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (6-Cl-D-DIBOA) y el 8-Cl-4-hidroxi-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (8-Cl-D-DIBOA) los cuales presentan una mayor actividad y selectividad respectivamente, resultando ser más fitotóxicos que los

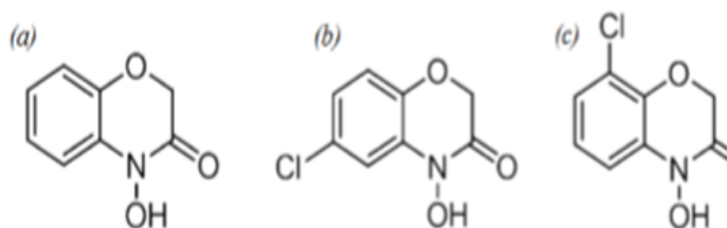


Fig. 2. Estructura del D-DIBOA (a), 6-Cl-D-DIBOA (b) y 8-Cl-D-DIBOA (c) sintéticos.

compuestos que no presentan sustituyentes en su anillo aromático [11], [12].

Igualmente el D-DIBOA, pese a ser una molécula estable, es completamente degradable en el suelo [2], [3], lo cual supone una gran ventaja puesto que reduce o elimina prácticamente por completo el riesgo de contaminación, por lo que no habrá biomagnificación, y el fitotóxico únicamente se encontrará en el medio durante el periodo de tiempo que es adecuado para su aplicación. Todo esto hace que el D-DIBOA, en particular, sea un producto de gran interés, y que se investiguen tanto sus usos y aplicaciones como la mejora de su producción.

Por estos motivos en el presente artículo se profundizará en el D-DIBOA.

2. SÍNTESIS

Inicialmente la síntesis del D-DIBOA se llevaba a cabo mediante una síntesis química en dos etapas (Fig. 3.). El

compuesto de partida es el 2-nitrofenol, al cual se le realiza una sustitución nucleofílica para la activación del grupo fenol y la inserción de la cadena lateral, para lo cual es necesario el tratamiento con disolución de hidróxido potásico en etanol, dimetilformamida (DMF) y bromoacetato de etilo, obteniendo así el precursor 2-(2'-nitrofenoxi) acetato de etilo.

La segunda etapa se basa en una reacción de reducción del grupo nitro aromático a hidroxilamina, mediante una ciclación intramolecular por adición-eliminación sobre el éster de la cadena lateral empleando como catalizador Pd/C. Se trata de una reacción de catálisis heterogénea altamente exotérmica con liberación de hidrógeno, por lo

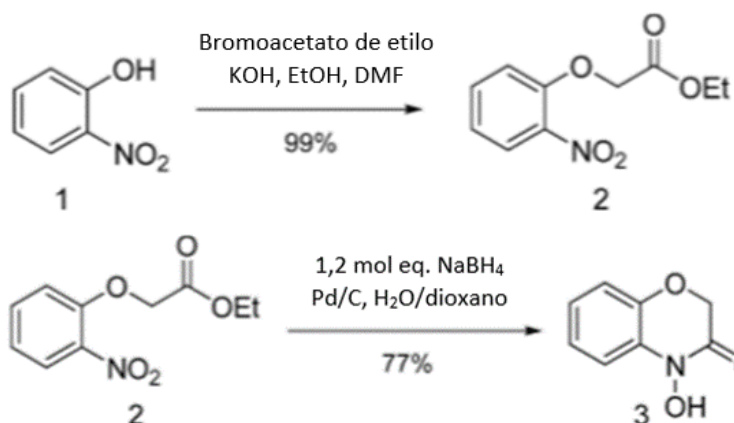


Fig. 3. Síntesis de ácido benzohidroxámico: (A) primera etapa: síntesis de etil 2-(2-nitrofenoxi) acetato (2) a partir de nitrofenol (1) y (B) segunda etapa: reducción del grupo nitro para la obtención de D-DIBOA (3).

que resulta ser muy peligrosa por el alto riesgo de explosión [13], [14], [15].

La primera etapa ha conseguido optimizarse mediante la variación de las condiciones de reacción, disminuyendo el tiempo de reacción a 24-28 h, y la temperatura a 55 °C; y la sustitución de algunos reactivos, como el uso de etanol en lugar de metanol [16].

Sin embargo, para la mejora de la segunda etapa se planteó el uso de la biotecnología como un modo para reducir los riesgos implicados en dicha etapa, así que se propuso que podría llevarse a cabo mediante una biotransformación lo que garantizaba de partida unas condiciones de reacción más suaves y, por tanto, menos peligrosas [15].

2.1. Biotransformación

La biotransformación se define como la modificación de un compuesto por un organismo vivo para dar un producto diferente al ser metabolizado y procesado por las enzimas o células de éste [15]. En el caso de los microorganismos, estas reacciones tienen lugar en sus condiciones de cultivo, las cuales suelen encontrarse a temperaturas de entorno a los 37 °C, a excepción de los extremófilos. El medio de cultivo no suele contener sustancias de carácter tóxico y se desarrollan a presión atmosférica. Todo esto implica que, por lo general, son reacciones que tienen lugar en condiciones no peligrosas y que los requerimientos para llevarlas a cabo son relativamente bajos si se compara con algunos de los reactivos necesarios en las síntesis químicas.

De esta forma la biotransformación se plantea como una posible ventaja en todos aquellos procesos donde sea aplicable. Se estudió la posible biotransformación a partir del precursor etil 2-(2-nitrofenoxi) acetato en D-DIBOA empleando dos cepas distintas *Escherichia coli* y *Serratia marcescens* tanto en condiciones aerobias como anaerobias a escala laboratorio. Se consiguió producir D-DIBOA, el mejor resultado se obtuvo para *Escherichia coli* en condiciones aerobias [15]. Sin embargo, los bajos rendimientos obtenidos en estos primeros estudios condujeron a profundizar en el estudio del mecanismo de la biotransformación.

2.1.1. Enzimas involucradas en la síntesis de D-DIBOA mediante biotransformación

Los microorganismos empleados para realizar la biotransformación deseada se seleccionaron porque ambos presentaban de forma natural actividad nitroreductasa, las enzimas responsables de esta actividad tienen como función catalizar la reducción de grupos nitro hasta hidroxilaminas en moléculas nitroaromáticas análogas al precursor [15], [17].

Por este motivo, se procedió al estudio a nivel enzimático, para determinar qué enzimas eran las implicadas en el proceso de biotransformación y poder así comprender mejor el proceso y poder obtener una cepa que produjera mayores rendimientos empleando herramientas de ingeniería genética. Se comprobó que las enzimas implicadas eran las nitroreductasas oxígeno-sensibles, concretamente la nitroreductasa monomérica (NfsA), la dihidropteridina reductasa monomérica (NfsB) y la N-etilmalamida reductasa (NemA). Para descubrir la importancia de cada una dentro del proceso se crearon mutantes simples, dobles o triples en los cuales se deleccionaron los genes NfsA, NfsB, NemA, NfsA/NfsB, NfsA/NemA, NfsB/NemA, NfsA/NfsB/NemA respectivamente, y se llevó a cabo el proceso de biotransformación con cada una de las nuevas cepas mutantes. De esta forma podría comprobarse el efecto de cada una de las enzimas en la producción de D-DIBOA [18]. En cada experimento se estudió tanto el rendimiento de la biotransformación como la productividad específica, obteniendo como resultado que las enzimas que realmente realizan la biotransformación son NfsA y NfsB. Por este motivo se realizó la clonación de los genes codificantes de estas enzimas en un vector de expresión inducible y se ensayó el proceso de biotransformación del precursor de D-DIBOA, alcanzándose un rendimiento cercano al 60% al sobreexpresar el gen NfsB (cepa *Escherichia coli* nfsB/pBAD-NfsB).

El vector elegido para la sobre expresión del gen NfsB fue el pBAD/His A (Fig. 4.) [14]. Este es un plásmido de 4,1 kb, que contiene un gen de resistencia a la ampicilina y es capaz de modular diferentes niveles de expresión de genes ya que la transcripción de los genes está regulada por el promotor araBAD que se activa en presencia de concentraciones de L-arabinosa de entre el 0,01 y 0,02% [19]. Un plásmido es un fragmento de ADN de doble cadena, generalmente en estado circular, que se encuentra en el citoplasma de bacterias y levaduras, y aunque no se encuentra integrado en los cromosomas permite a la célula

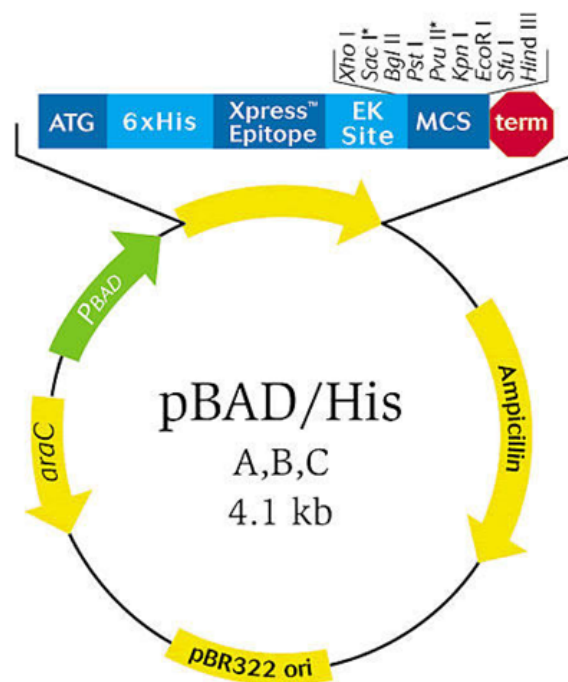


Fig. 4. Estructura plásmido pBAD/His A.

la expresar los genes que este contiene.

El plásmido contiene el promotor pBAD del operón arabinosa y su gen regulador AraC [20]. La proteína AraC actúa tanto como regulador positivo como negativo [21]. En presencia de arabinosa el transcripto de pBAD se activa, mientras que en su ausencia la transcripción ocurre a muy bajo nivel [22]. Los niveles de expresión no inducidos pueden reducirse más aún en presencia de glucosa. La glucosa reduce los niveles de AMP cíclico 39 y 59, reduciendo así la expresión del represor catabólico del promotor pBAD [23]. De esta manera se regula la expresión del gen clonado en el vector, NfsB en nuestro caso, pudiendo así inducir su sobre expresión para conseguir un mayor rendimiento en la biotransformación.

La enzima NfsB es dependiente de la disponibilidad de NADH y NADPH, puesto que los utiliza como donadores de electrones (e-). Por este motivo, una forma de mejorar el rendimiento de la biotransformación sería tratar de conseguir una mayor disponibilidad de poder reductor en el medio para conseguir aumentar la eficacia de la acción enzimática [15], [18].

5. CONCLUSIONES

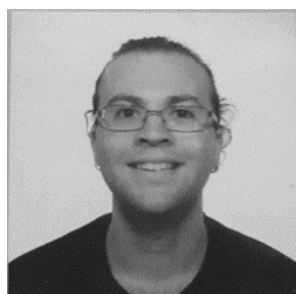
Los fitotóxicos, ya sean naturales o antropogénicos, en general, y el D-DIBOA en particular, parecen ser una prometedora solución a los problemas planteados asociados al uso de herbicidas. La síntesis mediante biotransformación del D-DIBOA ofrece muchas ventajas sobre la síntesis química tradicional, como son unas condiciones reactivas mucho más seguras y el uso de reactivos de menor coste; integrándose de esta manera dentro de los procesos que pueden catalogarse como química verde. Sin embargo este proceso todavía requiere mucha investigación para su optimización, como son el microorganismo, las condiciones de cultivo, el precursor, el inductor, modi-

ficaciones genéticas y mayor disponibilidad de poder reductor entre otros. Actualmente se están llevando a cabo investigaciones para poder conseguir la producción de D-DIBOA de forma eficaz mediante biotransformación a escala de laboratorio, con la perspectiva de su posterior escalamiento a planta piloto y finalmente a la industrial si fuera posible.

Apostar por el desarrollo de este tipo de fitotóxicos y su empleo supondrá un gran número de ventajas, en referencia al medio ambiente, dado que no son contaminantes y únicamente afectan a los organismos diana, y a nivel de producción puesto que en numerosas ocasiones se plantean procesos de producción más económicos y seguros aunque necesiten un mayor desarrollo todavía.

REFERENCIAS

- [1] Flamini, G. (2012). Natural herbicides as a safer and more environmentally friendly approach to weed control: A review of the literature since 2000. *Studies in Natural Products Chemistry* (1st ed., Vol. 38). Elsevier B.V. 354-355.
- [2] Virtanen AI, Hietala PK. The structures of the precursors of benzoxazinone in rye plants II. *Suom Kemistil B* 1959;32:252.
- [3] Hamilton RH, Bandurski RS, Reusch WH. Isolation and characterization of a cyclic hydroxamate from *Zea mays*. *Cereal Chem* 1962;39:107-13.
- [4] Torres, A., Oliva, R. M., Castellano, D., Cross, P. (1996). First World Congress on Allelopathy. A Science of the Future. SAI (University of Cadiz). Cadiz, Spain.
- [5] Anaya, A. L. (2003). *Ecología química*. 1ª edición. México, D. F: Plaza y Valdes. 255.
- [6] Macías, F. A., Marín, D., Oliveros-Bastidas, A., Molinillo, J. M. G. (2006). Optimization of benzoxazinones as natural herbicide models by lipophilicity enhancement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(25), 9357-9365.
- [7] Niemeyer, H. M. (1988). Hydroxamic acids (4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones), defence chemicals in the Gramineae. *Phytochemistry*, 27(11), 3349-3358.
- [8] Macías FA, Marín D, Oliveros-Bastida A, Molinillo JMG. Rediscovering the bioactivity and ecological role of 1,4-benzoxazinones. *Nat Prod Rep* (UK) 2009;26:478-89.
- [9] Macías FA, Molinillo JM, Galindo JC, Varela RM, Simonet AM, Castellano D. The use of allelopathic studies in the search for natural herbicides. *J Crop Prod* 2001;4:237-55.
- [10] Chinchilla, N., Marín, D., Oliveros-Bastidas, A., Molinillo, J. M. G., & Macías, F. A. (2015). Soil biodegradation of a benzoxazinone analog proposed as a natural products-based herbicide. *Plant and Soil*, 393(1-2), 207-214.
- [11] Macías, F. A., De Siqueira, J. M., Chinchilla, N., Marín, D., Varela, R. M., & Molinillo, J. M. G. (2006). New herbicide models from benzoxazinones: Aromatic ring functionalization effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 9843-9851.
- [12] Macías, F. A., Chinchilla, N., Varela, R. M., Molinillo, J. M. G., Marín, D., & de Siqueira, J. M. (2009). Aromatic-ring-functionalised benzoxazinones in the system *Oryza sativa*-*Echinochloa crusgalli* as biorational herbicide models. *Pest Management Science*, 65(10), 1104-1113.
- [13] Macías FA, Marín D, Oliveros-Bastidas A, Chinchilla D, Simonet AM, Molinillo JMG. Isolation and synthesis of allelochemicals from Gramineae: benzoxazinones and related compounds. *J Agric Food Chem* 2006;54:991-1000
- [14] Valle, A., Cabrera, G., Molinillo, J.M.G., Gómez, J.M., Macías, F.A., Cantero, D.. Biotransformation of ethyl 2-(2-nitrophenoxy) acetate to benzohydroxamic acid (D-DIBOA) by *Escherichia coli*. *Process Biochemistry*. (2011). 46, 358-364.
- [15] Gross, E. M. (2015). Optimización de la Síntesis Química del Precursor "2-(2'-nitrofenoxi) acetato de metilo" partiendo del 2-nitrofenol. Trabajo fin de Grado (Grado en Química). Universidad de Cádiz.
- [16] González-Pérez MM, Pieter Van D, Rolf MW and Juan LR. *Escherichia coli* has multiple enzymes that attack TNT and release nitrogen for growth. *Environmental Microbiology. Applied genetics and molecular Biotechnology*. (2007); 9(6): 1535-1540.
- [17] Valle, A., Le Borgne, S., Bolívar, J., Cabrera, G., & Cantero, D. (2012). Study of the role played by NfsA, NfsB nitroreductase and Nema flavin reductase from *Escherichia coli* in the conversion of ethyl 2-(2'-nitrophenoxy) acetate to 4-hydroxy-(2H)-1,4-benzoxazin-3(4H)-one (D-DIBOA), a benzohydroxamic acid with interesting bi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(1), 163-171.
- [18] Guzman LM, Belin D, Carson MJ and Beckwith J. Tight regulation, modulation, and high-level expression by vectors containing the arabinose PBAD promoter. *Journal of Bacteriology*. (1995); 177(14): 4121-4130.
- [19] Lee, N. 1980. Molecular aspects of ara regulation, p. 389-410. In J. H. Miller and W. S. Reznikoff (ed.), *The operon*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.
- [20] Carra, J. H., and R. F. Schleif. 1993. Variation of half-site organization and DNA looping by AraC protein. *EMBO J*. 12:35-44
- [21] Lee, N., C. Francklyn, and E. P. Hamilton. 1987. Arabinose-induced binding of AraC protein to araI2 activates the araBAD operon promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:8814-8818.
- [22] Miyada, C. G., L. Stoltzfus, and G. Wilcox. 1984. Regulation of the araC gene of *Escherichia coli*: catabolite repression, auto-regulation, and effect on araBAD expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:4120-4124.



Alejandro Ronco Campaña recibió el título de Biotecnólogo por la Universidad de Cádiz en 2017, estudiante de primer curso del Máster en Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria por la Universidad Pablo de Olavide.

La química de los alimentos

Alicia Moreno Pantoja

Resumen— A pesar de que todos los alimentos que los seres vivos ingieren están formados por química, los seres humanos, recurren a la utilización de productos químicos para que dichos alimentos tengan unas mejores características. No solo hay que tener en cuenta la parte positiva de los “agroquímicos”, sino que, hay que mirar también las consecuencias negativas que estos generan.

Palabras clave—Agroquímicos, Alimentos, Problemas derivados, Productos químicos, Química



1. Introducción

Todos los seres vivos necesitan alimentarse para poder realizar sus funciones vitales. En el caso de los seres vivos heterótrofos, como los seres humanos, es imprescindible la ingesta de comida para poder obtener energía. Sin embargo, muy pocas personas se plantean el hecho que los alimentos son química. Con el paso del tiempo, los humanos han ido desarrollando nuevas prácticas con el objetivo de mejorar las condiciones de vida. Una de esas prácticas ha sido utilizada en la agricultura, donde ciertos agricultores utilizan productos químicos para asegurar la recolecta de la cosecha de los alimentos. Parece que los productos químicos facilitan la vida humana. Pero, ¿esto es verdaderamente cierto? ¿No habrá consecuencias negativas detrás de todo esto?

2. Historia de la química en los alimentos

La historia de la química se remonta al inicio de la propia química (siglo XVIII).

2.1. Los alimentos como ejemplo de química

Una pera, una manzana...están formadas por productos químicos. Según la química, un alimento puede estar constituido por hidratos de carbono, lípidos, proteínas, fibras, agua, minerales, vitaminas...En mayor o menor medida[1]. Todos son necesarios para los seres vivos. Son conocidos como principios inmediatos y los podemos dividir en dos

clases: orgánicos (aquellos que se encuentran solo en la materia viva), inorgánicos (no son exclusivos de la materia viva)[2]. Los más estudiados son: agua, lípidos, hidratos de carbono y proteínas.

3. Contaminantes químicos en los alimentos

Hacia finales del siglo XIX, se empezaron a utilizar productos químicos en la producción de alimentos. Hoy en día, se siguen utilizando y cabe mencionar los más significativos: abonos químicos, pesticidas, y de forma sorprendente, hormonas[3]

- **Abonos químicos.** Sustancias utilizadas para que el suelo y plantas sean más fértiles. Ayudan a que estos adquieran los minerales suficientes garantizando una buena producción[4].
- **Pesticidas.** Sustancia utilizada para evitar la existencia de plagas en las plantas. Con el paso del tiempo, la agricultura fue avanzando y con esta, el uso de dicha sustancia. En la actualidad se conocen tres tipos de pesticidas: herbicidas, fungidas e insecticidas[3].
- **Hormonas.** Algunas hormonas, como “metiltiouracilo y anabolizantes”, son utilizados para que los animales destinados al consumo del hombre aumenten su peso[3].

Además, el hombre, se dio cuenta que, al utilizar algunos antibióticos como penicilina y cloranfenicol en la cría de ciertos animales,

estos crecían y se desarrollaban mejor que otros que no habían ingerido esos productos.

4. Ventajas de utilizar productos químicos en los alimentos

- **Aumento del cultivo.** La utilización de productos químicos en la agricultura o “agroquímicos” hacen que las frutas y verduras tengan un mayor tamaño. Algunos, como los fertilizantes, dan al suelo minerales como el potasio o nitrógeno, los cuales hacen que las plantas sean más grandes[5].
- **Efectividad respecto al dinero.** Las técnicas “agroquímicas” que tienen un solo nutriente, tienen un precio bajo si lo comparamos con otras técnicas más tradicionales. Son económicas[5].

5. Desventajas de utilizar productos químicos en los alimentos

- Contaminación del agua y de los alimentos. Los productos químicos que se utilizan en la agricultura, permanecen durante cierto tiempo en los alimentos, siendo perjudiciales para los seres vivos que se alimenten de ellos. Además, pasa de un ser vivo a otro en la cadena alimentaria.



Fig. 1. Peces muertos a causa de un episodio de contaminación de los cauces por agroquímicos (uso de herbicidas). [6]

Una de las grandes desventajas de los “agroquímicos” es la contaminación del agua cuando estos se filtran hacia las aguas subterráneas.

La contaminación del agua se debe al uso excesivo de fertilizantes en las cosechas. Este problema, se agrava con la llegada de las lluvias, debido a que arrastran estos productos tóxicos, contaminando todo a su paso. [7]

- El nitrato de amonio (NH_4NO_3) que tiene capacidad acidificante, es uno de los productos químicos más usado como fertilizante, ya que es muy eficaz y económico. Sin embargo, su uso podría ocasionar un cambio en el pH de la Tierra, provocando que sobre ésta no pudiera crecer la vida.[5]
- Altas concentraciones de un “agroquímico” podrían ser fatales para los seres vivos debido a la toxicidad provocada por esos productos.
- Los herbicidas utilizados en la eliminación de plagas, son un fuerte veneno.
- Dañan órganos de los seres humanos como el cerebro. Dicho órgano funciona como si fuera el ordenador principal del cuerpo. Es muy sensible a agentes químicos contaminantes[8]. Otros problemas de salud podrían ser: respiratorios, problemas en la piel, pérdida de memoria, depresión...



Fig.2. Linfoma de pulmón. [9]

El uso excesivo de “agroquímicos” es tóxico para el medio ambiente y los

seres vivos. En el caso concreto de los seres humanos, puede llegar a ser mortal y producir cáncer.[7]

La OMS ha declarado a cinco pesticidas como cancerígenos para los seres humanos, concretamente al herbicida glifosato y a los insecticidas diazinón, malatión, tetraclorvinfos y paratión. En la mayoría de ellos, hay una evidencia limitada de su relación con la aparición del linfomas y cáncer de pulmón.[10]

6. Conclusiones finales

Es un hecho que todo lo que nos rodea es química. Todo está formado por átomos, moléculas...

Centrándonos en el tema en el que estamos, no se puede negar que los alimentos también forman parte de la química.

Todos podemos observar como los productos químicos mejoran la vida humana, sin embargo, hay una parte negativa detrás de todo eso. Muchos problemas tanto ambientales como de salud, se han formado por la utilización de aquello que "mejora" la vida.

Quizás la evolución sea eso, evolucionar, y sería un error dejar de utilizar estos químicos. Sin embargo, se deberían utilizar de forma controlada y sin abusar de su uso.

REFERENCIAS

[1]https://es.wikipedia.org/wiki/Qu%C3%ADmica_de_los_alimentos

[2]http://recursos.cnice.mec.es/biologia/bachillerato/segundo/biologia/ud01/02_01_04_02_020.html

[3]<https://www.ecoagricultor.com/quimicos-produccion-alimentos-veneno-nutricion/>

[4]<http://ilovemyplanet123.blogspot.com.es/2012/11/quie-es-un-fertilizante-las-plantas-para.html>

[5]<http://www.gruposacsa.com.mx/ventajas-y-desventajas-de-usar-agroquimicos/>

[6]https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Water_habitat_contamination.jpg?uselang=es

[7]<http://agrodominicano.blogspot.com.es/2009/07/impacto-ecologico-sobre-uso.html>

[8] <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2010/04/08/192233.php>

[9][https://commons.wikimedia.org/w/index.php?search=lung+lymphoma&title=Special:Search&go=Go&searchToken=5n8hoji8zblzhntpnqfapa3w#/media/File:Lymphoma,_NOS_\(4420754747\).jpg](https://commons.wikimedia.org/w/index.php?search=lung+lymphoma&title=Special:Search&go=Go&searchToken=5n8hoji8zblzhntpnqfapa3w#/media/File:Lymphoma,_NOS_(4420754747).jpg)

[10] <https://www.elpais.com.uy/vida-actual/oms-declaro-cinco-pesticidas-cancerigenos-posibles-probables.html>



Alicia Moreno Pantoja—

Nació el 25 de mayo de 1999 en la ciudad de Huelva, España. Estudió allí sus estudios primarios, secundarios y bachillerato. Obtuvo matrícula de honor y el diploma al mejor expediente académico en el curso de segundo de

Bachillerato.

Estudia el grado en Biotecnología en la universidad Pablo de Olavide.

En un futuro, le gustaría seguir formándose y estudiar el máster en Biomedicina para poder investigar y erradicar lo más posible enfermedades presentes en la actualidad.