

MOLEQLA

n°
3
8

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 Informática: Norberto Díaz Díaz

MoleQla Biotecnología: Cristina Guillén Mendoza

MoleQla Patrimonio: María Pilar Ortiz Calderón

MoleQla Celular: Guillermo López Lluch

MoleQla Energía: Juan José Gutiérrez Sevillano

MoleQla Farmacia: Matilde Revuelta González

MoleQla Forense: Antonio Aguilar García

MoleQla Nanotecnología: Ana Paula Zaderenko Partida

Responsable de Maquetación

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. Merklung



ISSN 2173-0903

Editado el 7 de julio de 2020

Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

Hace tres meses, MoleQla sacaba un número en pleno confinamiento, y la actualidad estaba dominada por el coronavirus que trascendía ampliamente el ámbito científico. Por fin, han terminado todas las fases del confinamiento, y hemos entrado en la “nueva normalidad”. Hemos sacado muchas lecciones de este experimento social y científico en condiciones poco controladas. Para mí, ha sido llamativo el interés sostenido tanto tiempo por el tema, en las redes sociales y en las noticias, y el afán de muchos aficionados por entender la biología del virus, y por entender los aspectos epidemiológicos. Muchos científicos no epidemiólogos han ensayado con modelos de propagación dominados en general por el número básico de reproducción, el famoso factor R_0 y los han difundido por los canales a su alcance. Pero yo no criticaría estos esfuerzos, al contrario, a mí me ha hecho recobrar cierta fe en la humanidad, que los hombres siguen siendo en su naturaleza animales profundamente curiosos en temas que no les van a reportar un beneficio tangible inmediato. Es cierto que estas iniciativas han generado mucho ruido (buzz como dicen los Ingleses) en las redes sociales y han podido contribuir a mayor confusión entre el público, pero para mí es un intento de aportar su grano de arena. Quedan excluidos aquí los mil y un remedios para prevenir y curar el virus que han surgido en las redes sociales y que no voy a reproducir aquí, donde las motivaciones van de lo más sincero a lo más siniestro. Armado de un sólido desconocimiento de genética, puedo afirmar que es un ejemplo de selección natural para eliminar el gen de la credulidad.

Con el coronavirus, han sido posibles medidas drásticas que hubieran sido impensables cuando las preocupaciones dominantes eran el cambio climático y el problema de los plásticos en el medio ambiente. Así, se ha reducido en la etapa más férrea del confinamiento el porcentaje de tráfico del orden del 70%, y los vuelos en más del 95%. Como se ha mostrado en estudios científicos, por ejemplo en el tema del consumo de carne, los humanos estamos dispuestos a reducir dicho consumo con el fin de beneficiar nuestra salud, pero no si la forma de motivarnos es plantear que el beneficio es para el planeta. Al final, creo que especialmente para los activistas del medio ambiente queda analizar lo ocurrido y sacar nuevas ideas para su causa.

Y dicho esto, os dejo con este número de MoleQla para descubrir nuevos horizontes del post-confinamiento.

Patrick Merkling



ÍNDICE

1. Moleqta Informática

- 1.1. Historia del videojuego: Nacimiento y desarrollo hasta la actualidad
- 1.2. IA en la jugabilidad de los videojuegos

2. Moleqta Biotecnología

- 2.1. Autofagia: un arma de doble filo

3. Moleqta Patrimonio

- 3.1. Espectroscopia Raman y su aplicación en el análisis de pigmentos arqueológicos prehispánicos
- 3.2. Raman y su aplicación en la caracterización de pigmentos: el caso de Peña Espada

4. Moleqta Celular

- 4.1. El dengue: uno más entre nosotros
- 4.2. Vacunas contra el cáncer: un paso adelante en la batalla

5. Moleqta Energía

- 5.1. Biocombustibles y producción de biohidrógeno

6. Moleqta Farmacia

- 6.1. Endometriosis y el receptor P2X3
- 6.2. Enfermedad de Andrade. Nuevas estrategias para su tratamiento
- 6.3. Leucemia mieloide aguda: células T-CAR como tratamiento

7. Moleqta Forense

- 7.1. Gas Fosgeno
- 7.2. La Mamba Negra
- 7.3. ¿Es el captagon la droga de los terroristas?

8. Moleqta Nanotecnología

- 8.1. La nueva generación de enzimas artificiales: Nanozimas y sus aplicaciones

Historia del videojuego: Nacimiento y desarrollo hasta la actualidad

Aitor Muñoa Carrasco

Resumen—Los videojuegos pertenecen a la amplia categoría de los juegos, específicamente a la categoría de “juegos electrónicos” o “juegos de video”. Estos juegos tienen la particularidad de estar “construidos” sobre sistemas informáticos, basados a su vez en otras aplicaciones informáticas multimedia e interactivas muy complejas. Desde sus inicios sobre la década de 1960 hasta hoy en día han sufrido múltiples cambios, los cuales analizaremos pasando por las consolas y juegos más icónicos de cada una de las generaciones que ha habido, 8 hasta el día de hoy.

Palabras Claves— Desarrollo, Diseño, Lenguajes de programación, Software, Videojuegos.



1. INTRODUCCIÓN

Los videojuegos tienen su origen en la década de 1940, tras el fin de la segunda guerra mundial, tras la cual las potencias vencedoras crearon los primeros superordenadores programables como el ENIAC de 1946. Durante esta época se intentaron implementar en dichos ordenadores programas de un carácter más lúdico, como por ejemplo el ajedrez. Aunque no es hasta los años 60 cuando los videojuegos “modernos” aparecieron.

La década de 1960 fue una época de falsos comienzos para la industria de los videojuegos. Muchos habían empezado a explorar la idea, pero casi todos la abandonaban rápidamente convencidos de que no tendría futuro. El ajedrez por computadora, parecía un campo fructífero, pero permanecía dentro del ámbito académico dentro de las universidades, lo cual, lo alejaba considerablemente del campo del entretenimiento. En cambio, la idea de que los ordenadores eran inútiles para servir para fines lúdicos estaba llegando a su fin.

En 1962 un grupo de estudiantes de Massachusetts Institute of Technology (MIT) liderado por Steve Russell, decidieron crear *SpaceWar*, un juego de duelo espacial para dos jugadores usando un PDP-1, el cual era un ordenador con una arquitectura de 18bits y con una memoria de 4K de palabras ampliables hasta 64K. Por la época en la que el juego fue desarrollado, suponemos que se usó algún lenguaje de programación como FORTRAN, COBOL O ALGOL 60. Este último lenguaje proporcionó unas importantes innovaciones para los lenguajes de programación, donde encontramos las estructuras de bloques anidadas, le dio un ámbito léxico a los lenguajes y por último dotó a estos de una dotación matemática exacta (Backus-Naur Form) que sería usada por todos los demás lenguajes subsecuentes.

Tras el éxito de *Spacewar* en MIT, Steve Russell dejó el código fuente del juego a otras universidades para que estas lo instalasen en sus ordenadores PDP-1, lo probasen y mejorasen como ellos quisieran, dando lugar a distintas

versiones del mismo juego y dando lugar año más tarde al nacimiento de las primeras consolas domésticas como de Atari y Odyssey [1].

2. EVOLUCIÓN POR GENERACIONES

2.1. Primera Generación

Esta generación comenzó en 1972 con el lanzamiento de la Magnavox Odyssey (Fig. 1), y duró hasta 1977 cuando los fabricantes empezaron a ver la rentabilidad de las



consolas basadas en microprocesadores [2].

Fig. 1. Magnavox Odyssey.

Estas consolas como todas las de esta generación se caracterizaban por estar construidas usando una combinación de circuitos analógicos, usados principalmente para el control del juego y la salida, y digitales. De esta manera, los juegos para esta generación están implementados en DTL (Diode Transistor Logic), un componente de diseño digital que precede a la Tecnología-TTL (Transistor-Transistor Logic), la cual usaba transistores y diodos discretos. Aunque estuvieran construidas con DTL las consolas llegaron a tener una CPU de hasta 1.19 Mhz, una RAM de 128b en VLSI y una memoria ROM de un máximo de 4Kb.

Este tipo de consolas, aunque vendió cerca del millón de unidades, no fue muy exitosa debido a una pésima campaña de marketing y que Odyssey al ser la primera, fue muy copiada por la competencia. Aun habiendo sido

copiada por otros, Odyssey tenía las licencias, lo cual le permitió obtener beneficios de las otras empresas y disminuir el poder de estas. No fue hasta que llegó Atari con la Atari 2600, la cual era versión superior de la Magnavox, y destronó a Odyssey del mercado, haciendo de esta manera que la empresa dejase prácticamente por completo la industria del videojuego. [3]

El juego más icónico de esta generación fue *Tennis for Two*, que más tarde evolucionaría a *Pong*.

2.2. Segunda Generación

La segunda generación se inicia aproximadamente durante la segunda mitad de la década de los años 1970, con la llegada de la Atari 2600 en 1977. En esta generación tenemos varias consolas que le plantaron cara a Atari, el cual tenía prácticamente el dominio del mercado desde la generación anterior, tales como la Colecovision, que contaba con el doble de colores, y la Intellivision de Mattel, que cargaba el primer procesador de 16bits de la historia en lo que a consolas se refiere. De las tres que aquí se presentan la más exitosa fue la Colecovision (Fig. 2), debido a que poseía características similares a las otras dos, pero superiores, ya que poseía una tarjeta gráfica que soportaba 16 colores, 32 sprites, una resolución de 256x192 y tres canales de tono y uno de ruido. Además de todas las características mencionadas la Colecovision poseía una variante del chip Zilog Z8 y una gran capacidad para soportar módulos de expansión, ya que gracias a estos la consola fue capaz de utilizar cartuchos de la Atari 2600, ampliando considerablemente su propio catálogo [4].



Fig. 2. Colecovision.

Pasando a los juegos de esta generación tenemos que tener en cuenta que como ya hemos mencionado anteriormente, todavía se utilizaban cartuchos. La manera de programar los videojuegos para Atari 2600 y Colecovision sería usando ensambladores como basic o mos 6507 [5].

Algunos de los juegos más icónicos de esta generación son *Donkey Kong*, *Pong*, *Zaxxon* y *Smurf: Rescue in Gargamel's Castle*

2.3. Tercera Generación

La tercera generación, también conocida como la era de los 8 bits, supuestamente comenzó el 15 de julio de 1983 consolas como la Famicom de Nintendo y la Sega SG-1000 vieron la luz en Japón. Mientras tanto, el crash del 83 dejaba a Estados Unidos en la bancarrota, y en Europa el desfase de época hizo que se empezase a disfrutar de la

Atari 2600, consola que tras el primer crash de Estados Unidos en 1977 la dejó fuera de juego.

No fue hasta dos años más tarde, tras mucho esfuerzo, que Nintendo se atreviera a lanzar la NES (Fig. 3(a)) en el mercado americano, la cual tuvo un éxito muy inesperado para la compañía, tras lo cual, decidirían lanzarla en Europa unos años más tarde. A la NES le siguieron otras dos consolas, la Master System (Fig. 2(b)), que aun siendo más potente que la NES fracasó en el mercado, aunque eso no quita el hecho de que duró más que ella en el mismo. Y por último nos encontrábamos a una Atari 7800 (Fig. 2(c)), la cual fracasó en ambos mercados [6].



Fig. 3. Consolas de tercera generación

En cuanto a la NES, hablar de ella es algo bastante complicado y aburrido, debido al gran número de nombres, procesadores e inmensa cantidad de especificaciones que esta posee. Por tanto, nos centraremos en lo más básico de esta consola. Como ya sabemos, la NES pertenece a la tercera generación, en la que prevalecen los 8 bits. En lo que a números respecta, la consola contaba con una CPU Ricoh 2A03 de 8 bits. El soporte de esta consola consistía en los típicos cartuchos formados por un chip ROM, cubierta con un plástico que le daba forma al juego, una pestaña en la parte superior izquierda y la pegatina correspondiente en la derecha. Además, la NES cuenta con un puerto de expansión de 15 pines, que permitía al usuario conectar una serie de accesorios y otro de 72 para el cartucho. En lo que a memoria se refiere, la NES cuenta con un módulo de 2 KB de RAM, a esto le podemos sumar la RAM que podían contener los cartuchos, ya que esta estaba preparada para soportar unos 48KB de ambos tipos. Pasando por la tarjeta de video, esta consola utiliza un sistema de procesamiento de dibujo que le permite procesar a 5.37 Mhz, gracias a esta tarjeta de video la consola puede procesar 48 colores y 5 tonalidades de grises diferentes [7].

Para programar estos juegos se usaba ensamblador 6502 y el framework de NES, que era NES.css [8].

Por último, en esta generación encontramos algunos de los juegos más icónicos para muchos, como pueden ser *Mario Bros*, *Tetris*, *Donkey Kong*, *Pac-Man* o *Dragon Quest*.

2.4. Cuarta Generación

La cuarta generación comenzó en octubre de 1987 con el lanzamiento de PC Engine por parte de Nippon Electric Company's, tras la cual vinieron la Super Famicom de Nintendo y la Mega Drive de Sega, quedando el mercado

prácticamente dividido por estas dos. Gracias al éxito de la Mega Drive en esta generación, Sega se animó a ir un poco más allá y decidió crear a Sonic the Hedgehog para hacer competencia al Mario de Nintendo [9].



Fig. 4. Esta generación se caracterizó por lucha entre Sega y Nintendo, teniendo a estas dos consolas como exponentes (MegaDrive vs SuperNintendo)

En este punto de la historia de los videojuegos, muchas empresas ya se habían dado cuenta de la maduración de la industria y así comenzaron a hacer planes para lanzar sus propias consolas en el futuro.

Las consolas de esta generación se destacaban sobre las de tercera generación por:

- Tener un microprocesador más potente, típicamente de 16bits.
- Controles con múltiples botones que podían llegar a los 8 botones.
- Complejo paralelismo y ambientes con múltiples estratos con desplazamiento lateral
- Grandes dibujos, los cuales podían ser escalables
- Uso de color elaborado, de 64 a 256 colores en la pantalla
- Poseían un audio estéreo con múltiples canales y reproducción de audio digital
- Una música sintética mucho más avanzada.

Estos juegos, al igual que sus predecesores estaban programados usando ensamblador y el framework correspondiente de la compañía. Aunque a día de hoy existen programas para poder programar estos juegos en C, teniendo como pega que dependen mucho de los procesadores que las consolas tengan, ya que no es lo mismo programar en ensamblador que en C [10].

De esta generación encontramos como grandes iconos la saga de *Sonic the Hedgehog*, *Super Mario World*, *Super Metroid* y otros muchos más, sobre todo de Nintendo.

2.5. Quinta Generación

La quinta generación, también conocida como “la era de los 32 bits” o también conocido como “la era de los 64 bits” debido a que Nintendo lanzaría años más tarde la Nintendo 64. Estamos hablando de la generación que dio el paso del 2D al entorno 3D. En esta generación tenemos un gran número de consolas, aunque el mercado estuvo dominado principalmente por tres, Sega Saturn, PlayStation y Nintendo 64 [11].

De entre las tres nombradas, la PlayStation (Fig 5) fue la que terminó dominando casi por completo el mercado. Su dominio del mercado se debió a sus características,

que la hacían una máquina muy potente que supo usar muy bien el soporte en CD, ya que nada más salir al mercado superó en ventas a la competencia y acaparó un sinnúmero de juegos muy variados. Esta consola no solo acaparó el mercado, sino que lo cambió completamente. Debido a sus numerosas características [12], su apuesta por el CD y lo más importante, la facilidad que ofrecía a la hora de programar sus juegos.



Fig. 5. PlayStation 1 o PSX

Los juegos para la PlayStation se requerían y se requerían de conocimientos en C y C++, WindowsXP de 32 bits y un conjunto de librerías para montar el juego. Aunque todo esto supuso un problema, la consola era muy fácil de piratear, dando así comienzo a una época de piratería masiva con la que sigue intentando acabar incluso a día de hoy.

En esta generación tenemos un gran número de juegos que marcaron de una u otra manera la infancia de muchos, como los *Final Fantasy*, los *Resident Evil*, hasta los diferentes *Mario* y muchos más.

2.6. Sexta Generación

Esta generación comienza a finales del siglo XX con el lanzamiento de la Sega Dreamcast en 1998, aunque se vería eclipsada por la PlayStation 2 de Sony dos años más tarde. En cuanto a portátiles, nos encontramos con la Game Boy Advance (Fig. 6) de Nintendo y con la PSP de Sony, siendo la primera más exitosa que el resto.



Fig. 6. Game Boy Advance

Las consolas de sobremesa de esta generación se caracterizan por poseer mandos más ergonómicos, memorias externas y conexión a internet para poder jugar en línea.

Sony volvió a tener el dominio del mercado con su

PlayStation, gracias a la gran potencia de la maquina [13] y que era compatible con los juegos de su predecesora. Además de ello, Sony mejoro considerablemente la consola añadiéndole su Emotion Engine, la cual era sumamente complicada de programar, aunque esto fue perdiendo importancia a medida que lo desarrolladores cogían experiencia y perfeccionaban sus librerías.

Aquí nos encontramos en las mismas que en la generación anterior, hay numerosos juegos que brillaron durante esta época, tales como *Halo*, *Metal Gear Solid 3*, *The Legend of Zelda: The Wind Waker*, algunos de los GTA

2.7. Séptima Generación

En la séptima generación encontramos consolas que fueron lanzadas desde finales del 2005 por Nintendo, Sony y Microsoft, de las cuales destacamos la Play Station 3, los modelos posteriores de la PSP, la Xbox 360, la Wii y distintos modelos de la Nintendo DS y dura hasta el día de hoy.



Fig. 7. Consolas séptima generación

Las consolas de sobremesa de esta época se caracterizan por poder renderizar juegos en una alta definición, llegando en algunos casos a HD, eso en el caso de Microsoft y Sony. Por otro lado, Nintendo se centró más en controles con sensores de movimiento, aunque eso no le dio el dominio del mercado, ya que más tarde entraron PS Move(Sony) y Kinect(Microsoft) en el mercado, siendo esta última coronada con el record mundial de más unidades vendidas en los primeros 60 días de su salida.

De la séptima generación destacaremos la PS3, la cual venía con un procesador de nombre Cell [14], que explota el concepto tecnológico del Grid Computing, el cual consiste en aprovechar al máximo los recursos computacionales tanto de la maquina como de la red. Gracias a este procesador la PS3 tiene una potencia de cálculo abrumadora y puede explotar de manera más eficiente juegos con mayores requisitos [15].

En temas de programación, la PS3 como su predecesora por temas de procesador es bastante complicada de programar, los juegos se programan con Cg, C++ y la librería OpenGL|ES; en la Xbox se programa con Windows XP y con el IDE llamado XNA Game Studio Express. Nintendo por su lado, programa con el framework WBFS para la Wii.

Los juegos más emblemáticos que aquí encontramos pueden ser el *GTA 4*, los diferentes *Pokemon*, *FIFA* y *COD*.

2.8. Octava Generación

Esta es la última generación y es la que está vigente actualmente junto a la séptima. Encontramos en ella a la PS4 de Sony, la Wii U y Switch de Nintendo y la Xbox One de

Microsoft, así que podemos suponer que comenzó cuando la primera de estas fue lanzada al mercado. Lo más destacable de esta generación es el uso de internet como eje central de la funcionalidad de las consolas, habiendo juntado en una misma maquina un sistema de juegos, películas, series y otros contenidos.



Fig. 8. Consolas de Octava generación

En esta generación destaca el motor gráfico Unity que es llevado a cada una de las consolas mediante las respectivas herramientas de cada compañía. Por lo general, para poder programar un juego en Unity se deben de tener conocimientos en JavaScript o en C#, siendo este segundo lenguaje uno con más rendimiento debido al avanzado compilador que este tiene, lo que permite crear juegos más completos y más complejos [16].

El principal competidor de Unity es Unreal Engine, que se centra principalmente en juegos de Android e IOs, aunque hace poco salió una versión Unreal Engine 4 la cual hace mucho más fácil el programar, este motor tiene su propio lenguaje llamado Unreal Script, el cual es muy parecido a java.

Esta generación ha tenido gran cantidad de éxitos como *God Of War*, *Mario Odyssey*, *Zelda: Wreath of the Wild* y muchos más que todavía están por venir.

3. CONCLUSIONES

Como hemos ido viendo a lo largo de las generaciones, tanto las consolas, como lo videojuegos han ido evolucionando para hacerle la vida más cómoda y entretenida al usuario; además de que las herramientas para programar cada vez son más sencillas, ahorrando trabajo a los desarrolladores.

Por otro lado, la industria está evolucionando para mejorar todavía más los aspectos mencionados al principio, como por ejemplo puede ser el caso de la realidad virtual, la cual lleva desarrollándose durante los últimos años y mostrando buenos resultados. Así que, quien sabe, lo mismo en un futuro tenemos

REFERENCIAS

- [1] https://es.wikipedia.org/wiki/Historia_de_los_lenguajes_de_programaci%C3%B3n
- [2] https://es.wikiversity.org/wiki/Dise%C3%B1o_de_videojuegos/Introducci%C3%B3n_a_los_videojuegos_y_su_historia (Enlace web)

- [3] <http://www.museodelvideojuego.com/consolas/coleccion/>. (Enlace web)
- [4] <https://www.eurogamer.es/articulos/2011-07-29-segunda-generacion-articulo?page=3>
- [5] <https://www.insertcoinclasicos.com/tag/coleccion/page/2/>. (Enlace web)
- [6] <http://retromaquinitas.com/tercera-generacion-de-consolas/>
- [7] <https://vandal.lespanol.com/reportaje/30-anos-de-nes/3>
- [8] http://wiki.nesdev.com/w/index.php/Nesdev_Wiki
- [9] <https://www.3djuegos.com/comunidad-foros/tema/1498678/0/consolas-de-16-bits-la-cuarta-generacion-de-videojuegos/>
- [10] <https://www.briconsola.com/reportajes-tematicos/programar-juegos-de-megadrive/>
- [11] <http://retromaquinitas.com/quinta-generacion-de-consolas/>
- [12] https://www.taringa.net/+playstation_one/top-playstation-one-origen-y-caracteristicas_ruw0h (Especificaciones técnicas PSX)
- [13] https://www.ecured.cu/PlayStation_2 (Especificaciones técnicas PS2)
- [14] https://as.com/meristation/2007/05/28/reportajes/1180332000_036823.html (Procesador Cell)
- [15] https://www.taringa.net/+info/consolas-7-generacion-caracteristicas-tecnicas_145neg (Especificaciones técnicas consolas 7ª generación)
- [16] <https://platzi.com/blog/desarrollar-videojuegos/> (Unity)



Aitor Muñoa Carrasco ingresó en la Universidad Pablo de Olavide en el año académico 2017-2018 en la carrera de Ingeniería Informática en Sistemas de Información en la cual se encuentra estudiando en la actualidad. Anteriormente, había cursado la Educación Secundaria Obligatoria y el Bachillerato Tecnológico en el Colegio Sagrada Familia de Urgel en Sevilla, estudios que finalizó en el año

2017. Su interés por la tecnología desde una temprana edad, le llevó a decantarse por estudiar una ingeniería.

IA en la jugabilidad de los videojuegos

Alejandro Govantes Pola

Resumen—Este artículo tratará la evolución de la inteligencia artificial a lo largo de su historia dentro del mundo de los videojuegos además de sus enormes posibilidades en el futuro.

Palabras Claves— Inteligencia Artificial, procedural, NPC, algoritmo, videojuegos.

1. INTRODUCCIÓN

En este artículo se va a tratar la implementación de la inteligencia artificial y del machine learning dentro de la industria de los videojuegos.

La inteligencia artificial es un fenómeno que se lleva trabajando desde la generación de los 8 bits. Hace 30 años, disponíamos de inteligencia artificial en los juegos, pero era una cosa mucho más sencilla con respecto a la que tenemos ahora implementada. Se comentaba que los enemigos y distintos NPCs (Personaje No Jugable) disponían de IA, cuando lo que hacían era actuar siempre igual según ciertas condiciones: si nuestro personaje dispara, el enemigo se agacha; si estamos dentro de su campo de visión, nos persiguen.

En 2020, la inteligencia artificial con la que contamos es realmente una inteligencia: puede tomar decisiones por su cuenta, interpretar lo que está visualizando, improvisar de una manera más lógica que un humano, y por supuesto, muchísimo más rápido [1].

No es una idea sin fundamentos, la IA ya está entre nosotros, y aunque en muchas ocasiones no la veamos, está ahí. Juegos procedurales, tipos de filtros que gracias a esta tecnología consumen muchos menos recursos, las mismas que consiguen dominar la manera de jugar de auténticos profesionales... Así es como está evolucionando el mundo de los videojuegos gracias a dicha inteligencia.

Todos los avances tecnológicos que estamos experimentando en la actualidad, están previstos que puedan dar un salto de nivel en la Cuarta Revolución Industrial mediante el desarrollo de la IA y la utilización de la inmensa cantidad de datos (big data), lo que dará lugar al envío y recibo de datos que procesarán las máquinas para aprender y extraer conclusiones.

2. MACHINE LEARNING

Dentro del desarrollo de la inteligencia artificial se encuentra el machine learning o aprendizaje automático, que consiste en la interpretación por parte

de la máquina de los datos que recibe y, sin supervisión humana, poder tomar la decisión más adecuada según el contexto. Además de poder aplicarse en situaciones del día a día como puede ser la mejora en la calidad de las imágenes en las cámaras digitales, establecer un lenguaje mucho más natural en los asistentes virtuales o la búsqueda de imágenes en Google, los videojuegos van a experimentar una revolución tremenda en los próximos años [2].

La clave es que el mundo de los videojuegos es perfecto para el desarrollo de este tipo de tecnología ya que un jugador puede resultar un escaparate de lo que es el comportamiento humano. Esta información se consigue a través de los servidores de juegos online, en los que quedan almacenados todos los movimientos que realiza cada uno de los jugadores, los caminos que toma y las distintas decisiones que lleva a cabo. Esto permite que mediante la utilización del algoritmo adecuado, podamos saber las preferencias de cada jugador. Todos estos datos permiten que basándonos en los comportamientos anteriores de un determinado usuario, se pueda conocer no solo su próximo movimiento, sino también qué aspectos del juego va a disfrutar más y en definitiva poder crear juegos personalizados para un determinado jugador. Algo que especialmente en el mundo de los videojuegos puede resultar una auténtica hazaña.

La Universidad de San Petersburgo explica que se están desarrollando una gran cantidad de algoritmos centrados en la inteligencia artificial. Dichos algoritmos permiten tomar decisiones estratégicas en escenarios totalmente variados y complejos de forma automática. Las pruebas que se llevan a cabo con estos algoritmos en entornos simulados permiten a los investigadores corregir errores. De la misma manera, se van mejorando junto con la corrección de errores las estrategias que realizan para que de esa forma se pueda obtener una mayor eficiencia. Para que todo esto tenga lugar, las simulaciones deben parecerse todo lo posible al mundo real [3].

3. JUEGOS PROCEDURALES

La generación procedural consiste en el método de creación de contenidos a través de algoritmos, en lugar de su creación de forma manual, y se aplica tanto en videojuegos, instalaciones, programación y en música.

Antes de avanzar debemos hacer hincapié en un concepto fundamental, el algoritmo recurrente. Este tipo de algoritmo lleva a cabo la resolución de un problema mediante una llamada recursiva. Es decir, hace llamadas a sí mismo, cambiando el valor de parámetros de la llamada a la propia función. En la programación funcional cada frase dentro del propio lenguaje tiene una razón de ser. El lenguaje procedural es un idioma basado únicamente en caracteres y con su propia gramática [4].

Vegetación, rocas, relámpagos, cataratas, son solo algunos de los elementos que podemos encontrar cuando observamos la naturaleza. Todos comparten genealogía en el plano y en el espacio. Son objetos de geometría diversa cuya estructura se repite: fractales.

Un ejemplo muy claro, y que permite observar fórmulas recursivas simples, es el árbol. Imagina que desarrollamos un programa para el diseño de un árbol. Definimos dos cosas: tallo y rama, y establecemos la siguiente instrucción: «cuando llegues a tallo, saca dos ramas». Lo que tendría lugar al ejecutar nuestro programa sería lo siguiente: Primera iteración, tenemos dos ramas; segunda iteración: de cada extremo de esas dos ramas salen otras dos. Y así sucesivamente.

Es un concepto complicado de desarrollar y muy variado según el tipo de naturaleza que queramos que se genere. Es fundamental evitar la generación antinatural de terreno o de los elementos que componen la naturaleza, por ejemplo, un árbol que crece a lo largo y ancho del mundo sin cesar (puede que estemos buscando justamente ese tipo de generación, pero no es lo habitual), haciendo que pierda el realismo que estamos buscando.

Uno de los ejemplos más conocidos de generación procedural en el mundo de los videojuegos es Minecraft, uno de los juegos más vendidos de la historia y que uno de los pilares de su éxito consiste en la infinidad de ambientes que se generan cada vez que iniciamos una nueva partida. Esa idea de que cada jugador va a experimentar una partida completamente distinta a cualquier otro jugador gracias, en parte, a la generación del mundo.



Fig. 1. Escenario generado en Minecraft de forma procedural donde se observan distintos tipos de vegetación y formaciones rocosas.

4. REINFORCEMENT LEARNING

¿Y si tu vida consistiese únicamente en jugar? Mejor dicho, ¿y si estuvieses programado para ello? En ese caso, ni siquiera serías una persona, sino una inteligencia artificial y tu método de estudio sería el llamado "aprendizaje por

refuerzo" o "reinforcement learning". En su blog, la startup mexicana SoldAI lo explica así:

"Los algoritmos de aprendizaje por refuerzo definen modelos y funciones enfocadas en maximizar una medida de 'recompensas', basados en 'acciones' y al ambiente en el que el agente inteligente se desempeñará. Este algoritmo es el más apegado a la psicología conductista de los humanos, ya que es un modelo acción-recompensa, que busca que el algoritmo se ajuste a la mejor 'recompensa' dada por el ambiente, y sus acciones por tomar están sujetas a estas recompensas."

Es necesario recordar el logro de AlphaGo, el primer software que consiguió derrotar al campeón mundial del mítico juego chino Go. Consiguieron dicho hito haciendo jugar miles de veces a la IA contra jugadores aficionados y profesionales, hasta que consiguió obtener una técnica prácticamente perfecta, de manera que podía ganar con facilidad a jugadores de cualquier nivel y con estrategias de lo más complejas [5].

Una vez alcanzado ese nivel, sus creadores (DeepMind, compañía filial de Google) crearon una nueva versión del software, llamada AlphaGo Zero. Zero estudiaba el juego sin la necesidad de jugar contra otros jugadores, sino jugando contra sí misma. Cuando Zero se enfrentó a la versión anterior del software, pudo vencerla sin ningún tipo de problema una y otra vez.

5. GENERACIÓN MUSICAL

La música es un apartado fundamental en muchos videojuegos y puede ser de gran importancia a la hora de influir en el estado de ánimo del jugador ante diferentes situaciones y momentos de la historia. La mayoría de casos en los que se ha aplicado este tipo de tecnología han implicado el uso de ANN de alguna manera. Los métodos incluyen el uso de redes neuronales prealimentadas, autoencoders, máquinas de Boltzmann restringidas, redes neuronales recurrentes, redes neuronales convolucionales, redes adversas generativas (GAN) y arquitecturas compuestas que utilizan múltiples métodos. En 2014 se realizó un trabajo de investigación sobre "Codificadores automáticos recurrentes variacionales" que intentaba generar música a partir de 8 canciones de juegos diferentes. Este es uno de los pocos proyectos que han tenido lugar referidos a la música dentro del mundo de los videojuegos. La red neuronal en el proyecto fue capaz de generar datos que eran muy similares a los datos de los juegos de los que se entrenó. Por desgracia, los resultados dieron lugar a una música de baja calidad.

6. LA IA DENTRO DEL VIDEOJUEGO

La IA se utiliza en una gran cantidad de aspectos dentro de los juegos. El más habitual es el control de los NPCs, aunque la secuencia de comandos es actualmente el medio más común de control. La búsqueda de ruta es otro de los usos comunes para la IA, visto con gran frecuencia en los juegos de estrategia en tiempo real. Buscar el camino consiste en la obtención por parte del NPC del camino más

adecuado para llegar de un punto a otro del mapa, teniendo en cuenta el terreno, los obstáculos y, posiblemente, evitando colisiones con otras entidades o quizás la colaboración con ellos. La IA está relacionada también con el equilibrio de la dificultad del juego, que consiste en el ajuste de la dificultad de manera automática dentro de un videojuego en tiempo real basado en la habilidad del jugador y la manera de jugar del mismo.

La idea de IA emergente ha sido explorado en una gran cantidad de juegos de todos los géneros, uno de los casos más habituales es el de mundo abierto. En estos casos, resulta fundamental la correcta integración de los NPCs dentro del mundo en los que se desarrolla la historia para que todo resulte mucho más inmersivo, desde enemigos que improvisan armas con objetos que se encuentran en el escenario hasta aliados que avisan de un posible peligro.

7. CONCLUSIONES

Está claro que la inteligencia artificial va a jugar un papel aún más importante en los próximos años en todos los ámbitos, y todo con el objetivo de hacernos la vida más sencilla a los humanos. Y al igual que en el resto de campos, los videojuegos se van a ver afectados por dichas mejoras y cada vez se va a conseguir recrear de una forma más fiel la realidad basada en la inteligencia humana.

REFERENCIAS

- [1] <https://www.infoplay.info/2019-07-01/-160especial-exclusivola-inteligencia-artificial-y-sus-aplicaciones-a-la-industria-del-ocio-y-el-juego/9179/noticia/>
- [2] <https://vandal.elespanol.com/noticia/1350724120/el-machine-learning-podra-predecir-todo-lo-que-haremos-en-un-juego/>
- [3] <https://master-deeplearning.com/inteligencia-artificial-videojuegos/>
- [4] <https://www.xataka.com/videojuegos/procedurally-generated-content-la-revolucion-de-los-videojuegos-es-ahora-aunque-llevamos-40-anos-creandola>
- [5] <https://www.xataka.com/robotica-e-ia/ias-pueden-humillarnos-jugando-a-nuestro-videojuego-favorito-como-aprenden-a-hacerlo>



Alejandro Govantes Pola estudia el tercer año del grado de Ingeniería Informática en Sistemas de la información.

Autofagia: Un arma de doble filo

Sandra Jiménez Lozano

Resumen — La autofagia es un proceso catabólico implicado en el reciclaje de moléculas y el mantenimiento de la homeostasis celular que presenta una estrecha pero intrincada relación con el sistema inmune y su correcto funcionamiento, empujando como un arma de doble filo en el desarrollo tumoral.

Palabras Claves — Autofagia, Cáncer, Inmunidad adquirida, Inmunidad innata, Linfocitos.

1. INTRODUCCIÓN

La autofagia es un proceso catabólico altamente conservado en eucariotas en el que los componentes intracelulares son secuestrados y degradados para su posterior reciclaje. Este proceso es activado bajo condiciones de inanición (falta de aminoácidos, privación de glucosa), hipoxia, daño celular o retirada de factores de crecimiento. La degradación de estructuras como proteínas u orgánulos dañados por el tiempo provee a la célula con nuevas formas de energía que le permiten recuperar la homeostasis independientemente del estrés metabólico, lo que hace que la autofagia sea considerada un mecanismo de defensa endógeno, el cual se presenta en niveles basales en la mayoría de las células en condiciones normales [1]. En dicho proceso, los componentes son englobados en vesículas de doble membrana que reciben el nombre de autofagosomas [2], los cuales son enviados a los lisosomas para la degradación y reciclaje de las moléculas resultantes a través de una serie de pasos secuenciales que consisten en i) inducción, ii) nucleación vesicular, iii) elongación vesicular, iv) acoplamiento y fusión, v) degradación y vi) reciclaje [3]. Existen tres tipos principales de autofagia: macroautofagia, microautofagia (observada en plantas) y autofagia mediada por chaperonas, las cuales se caracterizan por los distintos mecanismos que presentan a la hora de depositar los cargos en el lisosoma [1]. Es un mecanismo complejo cuya maquinaria principal está formada por proteínas ATG (la mayoría de las cuales son citoplasmáticas) en concreto ATG1, ATG9, los complejos PI3K y dos sistemas de conjugación que incluyen a ATG8, ATG5/ATG21/ATG26, siendo ATG8 la de mayor relevancia [4].

Puesto que la autofagia implica la transferencia de susstratos citoplasmáticos a los lisosomas, se la ha implicado tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa, así como defectos asociados al mal funcionamiento del flujo autofágico se han podido relacionar con determinadas patologías, entre las que se encuentra el cáncer.

2. AUTOFAGIA Y SISTEMA INMUNE

El efecto modulador de la autofagia actúa sobre numerosos elementos del sistema inmune, tal y como es el caso de las células NK, macrófagos, células dendríticas, linfocitos (tanto B como T), influenciando procesos de homeos-

tasis, supervivencia, activación, proliferación y diferenciación, así como influencia la liberación de anticuerpos y citoquinas. Asimismo, el sistema inmune también ejerce un efecto regulatorio de la autofagia a través de ciertas interleuquinas, las cuales tienen efectos bien inhibitorios (IL-4, IL-10 e IL-13) o activadores (IL-1 e IL-2), así como a través del interferón o TGF- β (transforming growth factor beta), ambos activadores [3].

En este apartado se va a proceder, por tanto, a analizar y observar en mayor profundidad la relación entre inmunidad innata y adaptativa y autofagia, pudiendo ver algunos de los factores principales en la Figura 1.

2.1. Autofagia e Inmunidad Innata

La autofagia mediada por la inmunidad innata puede verse incrementada por la activación de los receptores Toll-like receptors (TLRs) o los NOD-like receptors (NLRs). Así se ha visto que TLR2 es responsable de estimular la autofagia con el objetivo de potenciar la respuesta innata a través de la activación de rutas de señalización como la ERK. De la misma forma, otros TLR tal y como TLR4 y TLR7 son capaces de activar la autofagia a través de su interacción con diversos factores. Además de los TLRs, DRAM1 (damage-regulated autophagy modulator 1) media el reconocimiento de patógenos a través de la ruta innata de señalización TLR-MyD88-NF- κ B, lo cual resulta en la activación de un proceso de autofagia selectivo. Mientras que los TLRs detectan a los patógenos de la superficie celular, algunos miembros de la familia NLR, como NOD1 y NOD2 reconocen patógenos citosólicos, siendo capaces de activar, de forma similar a los TLRs, la ruta de señalización NF- κ B, induciendo directamente la formación de autofagosomas. Recientemente se ha descubierto que IRF8 (interferon regulatory factor 8) parece ser un regulador principal en el proceso de maduración de la autofagia y en la respuesta inmune innata, favoreciendo la formación de autofagosomas y su fusión con los lisosomas [3].

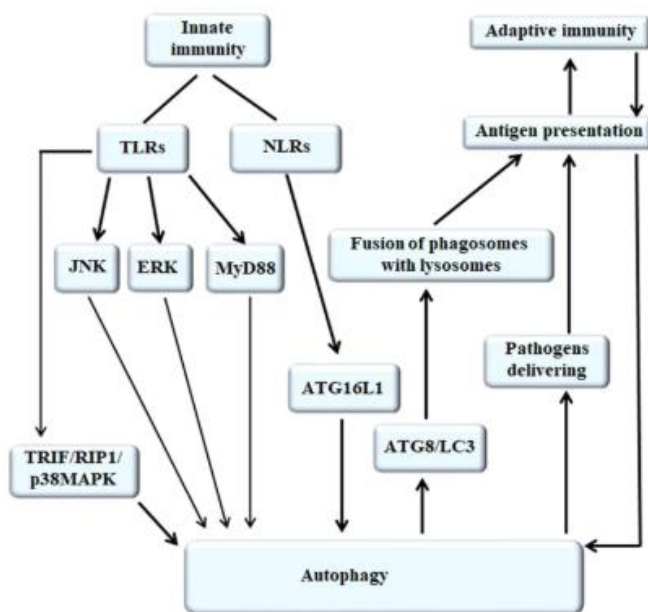


Fig 1. Sistema de regulación sistema inmune-autofagia³. El sistema inmune ejerce un efecto regulador de la autofagia a través de los receptores TLR y NLR, mientras que la autofagia presenta gran relevancia en la presentación antigénica a través de proteínas como la ATG8.

2.2. Autofagia e Inmunidad Adaptativa

El papel que juega la autofagia en la inmunidad adaptativa abarca diversos aspectos entre los que se encuentran la presentación antigénica, selección en el timo, desarrollo de linfocitos y liberación y homeostasis de las citoquinas, lo que participa en los efectos antitumorales [3]. La respuesta adaptativa depende del reconocimiento de péptidos intra o extracelulares presentados a través de los complejos mayores de histocompatibilidad (CMH) I y II, los cuales son reconocidos por linfocitos citotóxicos (Tc o CD8⁺) en el primer caso, y por linfocitos ayudantes (Th o CD4⁺) en el segundo. A su vez, los receptores de los linfocitos T interactúan con distintas células presentadoras de antígeno (APC) para iniciar las respuestas inmunes humoral y celular. En este punto, la autofagia proporciona el ATP responsable de que las células T antitumorales activen a las APCs. Al activar la autofagia, los autofagosomas engloban patógenos intracelulares y llevan los productos al CMH II para realizar la presentación antigénica a los linfocitos T ayudantes CD4⁺. Parece ser que la autofagia podría facilitar la presentación de antígenos extracelulares al CMH II a través de la fagocitosis asociada a ATG8/LC3 (LAP). Además de esto, la autofagia es importante en el procesamiento de antígenos para la presentación cruzada del CMH I, lo cual ha sido probado en un estudio en el que se ha visto que el α -TEA estimula la autofagia y genera un sobrenadante con alta presencia de autofagosomas, actuando como un transportador de antígenos capaz de estimular la presentación cruzada del CMH I a los linfocitos T CD8⁺ [3].

3. AUTOFAGIA Y CÁNCER

La relación existente entre sistema inmune y autofagia es mucho más compleja de lo que puede parecer en un principio, e involucra una gran cantidad de rutas de señalización. Así, el efecto protector o favorecedor en la aparición de tumores que juega la autofagia depende del tipo celular o tejido que se vea afectado, así como de la etapa en la que se encuentre el tumor (por lo general, limita la iniciación, pero promueve el establecimiento y progresión del tumor), tal y como se plasma en la Figura 2. A partir de lo que se ha podido elucidar, parece ser que la iniciación del tumor es suprimida bajo condiciones estresantes a través de la autofagia gracias a que previene la acumulación tóxica de proteínas y orgánulos dañados, especialmente de mitocondrias [5].

mTOR (una proteína serina-treonina quinasa que inhibe la autofagia), que resulta en la activación del crecimiento celular, proliferación y supervivencia, supone una puerta de escape al control de la autofagia [5]. Su actividad es esencial a la hora de determinar si las señales celulares van a ser pro- o anti-autofagia. Muchos reguladores de esta proteína se encuentran reducidos en tumores humanos. Un importante regulador, aguas abajo de mTOR, es

Beclin-1 (*BECN1*), factor que ha supuesto el primer enlace humano entre cáncer y autofagia. Se ha podido comprobar que dicho gen, el cual es un supresor de tumores haploinsuficiente, sufre deleciones monoalélicas en el 50% de cánceres de ovario, próstata y mama y es expresado en bajos niveles en tumores cerebrales [1], [6]. Diversos estudios en ratones han validado la importancia de este gen, cuya pérdida bialélica resulta mortal en embriones, mientras que aquellos que mantienen una copia sobreviven, pero con una incidencia de linfomas, cánceres de hígado y pulmón mucho más elevada que la presentada en los animales control [5]. Esta idea ha sido reforzada con la reintroducción del gen *BECN1* en células MCF7 de cáncer de mama humano, restaurando su capacidad autofágica e inhibiendo el potencial tumorigénico. Beclin1 forma parte de un complejo proteico que regula la autofagia a través de su composición, de manera que su monomerización es requerida para que pueda asociarse y activar a PI3K-III hVps34, el cual es crítico para la formación de autofagosomas [5], [6], [7]. IDO, una enzima producida por tumores, es capaz de inhibir de forma efectiva la respuesta antitumoral, dando lugar a la tolerancia y promoviendo el desarrollo del tumor. Para ello, IDO activa la autofagia a través de la inhibición de una señal de suficiencia de triptófano, lo que inhibe a su vez a mTOR, por lo que la autofagia puede inhibir la producción de IDO de expresión mediada por inflamación al suprimir la misma. PD-1 actúa como un punto de control inhibitorio de células T y suprime la inmunidad antitumoral al desarrollar tolerancia por parte de las células T, lo que dificulta el reconocimiento de células tumorales a través de la interacción con PD-L1 [3].

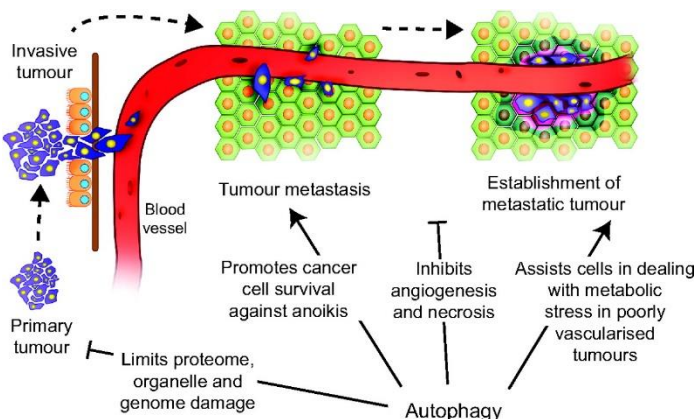


Fig 2. Papel de la autofagia en el desarrollo de tumores⁵. En función del tipo celular y de la etapa de desarrollo en la que se encuentre el tumor, la autofagia puede tanto inhibir su desarrollo como favorecerlo.

4. CONCLUSIONES

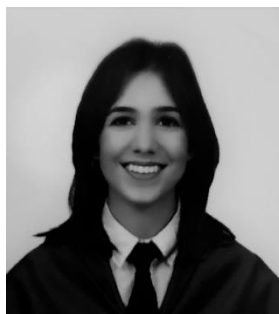
Cada vez son más las evidencias de la compleja red de interconexiones que se establecen entre la autofagia, el sistema inmune y el desarrollo de tumores, aumentando la necesidad de llevar a cabo una investigación más profunda para poder así elucidar las distintas rutas involucradas en este delicado balance. Como se ha visto, la autofagia tiene un papel doble en el crecimiento del tumor, el cual depende de las propiedades de este y los tipos celulares involucrados. Es por ello que la autofagia podría ofrecer un nuevo enfoque terapéutico cuya combinación óptima con inhibidores o activadores, sumado a terapias como la quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia o terapia génica, podría suponer una forma más eficiente de atacar a los tumores. Además, podría ser importante conocer cómo regular la autofagia para fortalecer las respuestas inmunes tanto adaptativa como innata y sobrepasar la resistencia tumoral para las inmunoterapias.

REFERENCIAS

- [1] Jin, Y., Hong, Y., Park, C. Y., & Hong, Y. (2017). Molecular Interactions of Autophagy with the Immune System and Cancer. *International journal of molecular sciences*, 18(8), 1694. doi:10.3390/ijms18081694
- [2] Bassham, D.C. (2009). Function and regulation of macroautophagy in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Molecular Cell Research*, 1793 (9), 1397-1403.
- [3] Jiang, G., Tan, Y., Wang, H. et al. The relationship between autophagy and the immune system and its applications for tumor immunotherapy. *Mol Cancer* 18, 17 (2019) doi:10.1186/s12943-019-0944-z.
- [4] Zhuang, X., Cui, Y., Gao, C., and Jiang, L. (2015). Endocytic and autophagic pathways crosstalk in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 28, 39-47.
- [5] Liu, E. Y., Ryan, K. M. (2012). Autophagy and cancer - is-

sues we need to digest. *J. Cell Sci.*, 125, 2349-2358. doi: 10.1242/jcs.093708.

- [6] Rosenfeldt, M. T., & Ryan, K. M. (2009). The role of autophagy in tumour development and cancer therapy. *Expert reviews in molecular medicine*, 11, e36. doi:10.1017/S1462399409001306
- [7] Jaber, N., & Zong, W. X. (2013). Class III PI3K Vps34: essential roles in autophagy, endocytosis, and heart and liver function. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1280, 48-51. <https://doi.org/10.1111/nyas.12026>



Sandra Jiménez Lozano.

Estudiante de 4º del grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide y alumna colaboradora en el Departamento de Fisiología Vegetal.

Espectroscopia Raman y su aplicación en el análisis de pigmentos arqueológicos prehispánicos.

Michele Dinator Esterio

Resumen—El análisis de los pigmentos que forman parte del registro arqueológico prehispánico entrega información conductual y tecnológica relevante sobre las culturas que habitaban el territorio americano. La espectroscopia Raman es una de las técnicas más utilizadas para el análisis de estos pigmentos. En este trabajo se realiza una revisión de casos de aplicación de la técnica en pigmentos procedentes de diferentes materiales arqueológicos prehispánicos, identificando metodologías de análisis y sus principales resultados, los cuales incluyen el descubrimiento de características culturales de los grupos humanos antiguos a través del uso de cierta materias primas y fuentes de aprovisionamiento, junto con información relevante para la conservación de estos materiales.

Palabras Claves— Espectroscopia Raman, arqueometría, pigmentos, arqueología prehispánica, conservación.

1. INTRODUCCIÓN

Las diferentes expresiones artísticas y rituales prehispánicas que componen el registro arqueológico, como son las cerámicas, el arte rupestre y las ofrendas fúnebres, son evidencia de las sociedades que han habitado el territorio americano. El estudio de los pigmentos en las pinturas que los componen permite obtener información valiosa sobre las costumbres [1], y las técnicas de elaboración y recursos de estas culturas [2], [3], [4]. Estos materiales arqueológicos forman parte del patrimonio cultural, por tanto, su análisis requiere considerar aspectos como su invasividad a fin de minimizar la alteración de los bienes [5], [4]. De las diferentes técnicas analíticas existentes para caracterizar pinturas arqueológicas, la espectroscopia Raman es una de las más usadas [6], [7] ya que posee ventajas que la convierten en una herramienta adecuada para estudios arqueométricos como son su rapidez, el ser no invasiva y no destructiva [5], [6], [7].

Este trabajo realiza una revisión de la aplicación de la espectroscopia Raman en el estudio de pigmentos sobre diferentes sustratos arqueológicos prehispánicos con el objetivo de identificar metodologías analíticas utilizadas, dimensionar sus alcances y potencial de aplicación en función de cómo la interpretación de los resultados generan aportes a la comprensión de estas culturas y los procesos de transformación del registro arqueológico.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Pigmentos y los componentes del registro arqueológico

Las cerámicas fueron una de las principales producciones

de las culturas sudamericanas precolombinas [8], siendo también una de las principales evidencias de dichas sociedades en el registro arqueológico [2]. Tal es el caso del análisis de fragmentos cerámicos de la Cultura Diaguita (siglos IX-XV) (Chile) [5]; la cerámica estilo Belén del valle El Bolsón (Catamarca, Argentina) producida entre los siglos XI y XVII [2]; las figuras de la cultura Jama-Coaque en la zona costera de Ecuador (240 a.C. -1532 d.C.) [8] y las cerámicas San José del valle de Yocavil (Argentina) [4].

Por otro lado, el arte rupestre es una de las formas de expresión más antiguas de la humanidad [6], teniendo un alto valor histórico y cultural [3]. Algunos casos en América son las pinturas rupestres del Limarí creadas por grupos de cazadores recolectores (2000 a.C.-500 d.C.) [3], las de cazadores-recolectores en la Patagonia Argentina [9], las de cazadores-recolectores arcaicos (10500-3700 A.P.) del norte grande de Chile [10] y las de Inkaterria en Machu Picchu (Perú).

Además de estas expresiones artísticas, los pigmentos forman parte de los rituales funerarios de varias culturas, pudiendo encontrarse como bloques en ofrendas como los pigmentos amarillos hallados en Playa Miller 7 (PLM7) del periodo formativo (3700–1500 A.P.) en la costa norte de Chile [5], ofrendas de pigmentos amarillos [5] y rojos [1] en conchas de molusco del periodo formativo temprano (800-200 A.P.) en el sitio Chorrillos (Calama, Chile) o en cuerpos intencionalmente momificados, como es el caso de la cultura Chinchorro que habitó el norte de Chile entre el 7020 y el 1500 a. C. [1], [10].

2.2. Metodologías de Análisis instrumental

Para la identificación de pigmentos arqueológicos micro-Raman y Raman portátil poseen como principales ventajas bajos tiempos necesarios para realizar mediciones, la posibilidad de estudiar materias primas

sin tratar, el ser no invasivas y el que permiten estudiar diferentes tipos de materiales (cristalinos, amorfos, orgánicos e inorgánicos) ampliamente heterogéneos gracias a su resolución espacial micrométrica [7]. En la aplicación de la técnica, para pigmentos arqueológicos, se buscan condiciones que minimicen daños en la muestra, por tanto, usualmente el poder del laser se mantiene bajo para evitar alteraciones [9] siendo la línea láser de 785 nm una de las más usadas [1], [2], [5], [6], [10] por ser menos energética y por tanto, con menos probabilidad de inducir resonancia o fluorescencia a fin de obtener mejor calidad espectral en las condiciones más suaves posibles [5], [7].

El análisis de pigmentos mediante Raman suele complementarse con técnicas de espectroscopia por infrarrojo (FT-IR), técnicas elementales (FRX, EDS) y de microscopía electrónica (SEM, TEM), entre otras. En la tabla 1 se resumen las técnicas utilizadas en metodologías de análisis de pigmentos arqueológicos para diferentes soportes, de acuerdo a los casos revisados.

TABLA 1
METODOLOGÍAS DE ANÁLISIS Y MATERIALES DEL REGISTRO
ARQUEOLÓGICOS ESTUDIADOS.

	Arte rupestre	Cerámica	Cuerpo momificado	Bloque de Pigmento
Raman portátil [9]	x			
Micro-Raman [3], [2], [4], [6], [5], [10]	x	x	x	x
Microscopía óptica [1], [3], [5]	x		x	x
Microscopía electrónica de barrido con espectrómetro de energía dispersiva de Rayos X (SEM-EDS) [1], [4],[5],[6], [8]	x	x	x	x
Microscopía electrónica de transmisión (TEM) [8]		x		
Resonancia magnética nuclear (RMN) [5]				x
Difracción de Rayos X (DRX) [1], [2], [4],[5],[6]	x	x	x	x
Fluorescencia de Rayos X (FRX) [4],[5]		x		x
Espectroscopia infrarroja (FT-IR) [1], [5], [8]		x	x	x

3. RESULTADOS

Los análisis por Raman, complementados con otras técnicas, realizados a los pigmentos de diferentes materiales prehispánicos entregan información relevante sobre la naturaleza material que se vincula a aspectos tecnológicos y conductuales de las culturas que los crearon, como sucede con la variabilidad material de pigmentos detectada en las cerámicas estilo San José [4]. En el caso de las cerámicas Diaguita los datos obtenidos por Raman permitieron distinguir bandas características de óxido de cobre (II) o tenorita, lo que contradice la idea inicial de que el pigmento negro estaba compuesto por sales de manganeso ($MnCl(OH)_2$) y corresponde a un rasgo único de esta cultura [5]. Algo similar sucede con las cerámicas tipo Belén, siendo el primer caso en el noroeste argentino donde se identifica el uso de hueso calcinado en pigmento negro, además se detectó la presencia de bandas características de yeso ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$) que corresponden a productos de procesos de alteración en el contexto arqueológico [2]. En las cerámicas Jama-Coaque se encontraron indicadores

tecnológicos como tratamientos de calor y la presencia de pigmentos sintéticos modernos (ftalocianina azul, litopón y blanco titanio), corroborados con FT-IR y análisis elementales [8].

Por otro lado en el arte rupestre patagónico se encontraron productos de alteración (yeso y calcita) que interfieren en la conservación de las pinturas [9]. En el caso de las pinturas de Inkatererra, sorprendentemente los pigmentos analizados revelaron que las bandas de Raman del color naranja, que en primera instancia se creían parte de la composición, corresponden a pigmentos orgánicos beta-caroteno (Fig. 1), lo cual se debe a la presencia de microorganismos que secretan este tipo de pigmento biogénico. Mediante SEM se corroboró la presencia de algas colonizando la micro superficie de las muestras [6].

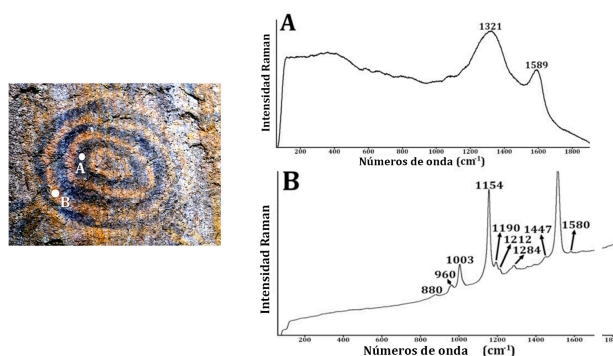


Fig. 1. Espectros Raman de pintura rupestre Inkatererra mostrando A) bandas Raman características de carbón vegetal (1321 and 1589 cm^{-1}) en área negra y B) Espectro Raman de β -caroteno detectado en áreas naranja (modificado de Morillas et al. [6]).

El análisis de los bloques de pigmentos del sitio PLM7 identificó natrojarosita y K-jarosita como los principales componentes, lo cual fue corroborado mediante FRX, SEM-EDX y DRX, siendo los primeros resultados que sustentan la idea que minerales de la familia de las jarositas se utilizaron en Chile en tiempos antiguos [5]; la comparación espectral entre estas muestras y las del área geotermal Jurasi muestran correspondencias, permitiendo proponer que esta última fue utilizada como fuente de aprovisionamiento de pigmento amarillo por los habitantes prehispánicos del periodo formativo (3700-1500 A.P.) [5], por otro lado, en los pigmentos de Chorrillos se identificó oropimente, material tóxico para los humanos; su uso por los habitantes de Calama (Chile) durante el periodo formativo dan paso a futuros estudios que pueden enfocarse en las fuentes de origen, extracción y manejo de estos minerales peligrosos [5].

La investigación de Ogalde et al. [1] identificó que la hematita corresponde al cromóforo del pigmento utilizado en la tradición Chinchorro de momificación en la región de Iquique (período Arcaico) y que en Calama usaban el mismo pigmento (período Formativo). Finalmente, el análisis comparativo de pigmentos negros en tres sitios del norte de Chile procedentes de arte rupestre y un cuerpo momificado concluyó que el criptomelano detectado en los pigmentos se obtuvo de la minera Los Pumas [10].

4. DISCUSIÓN

La espectroscopia Raman, en muchos de los casos, constituye la primera aproximación para caracterizar pigmentos en los materiales prehispánicos [2], [3], [4], [5], [9] y entrega indicadores tecnológicos característicos de las culturas precolombinas, a través del uso de ciertos materiales por parte de estas [5], [2], [8]. Esta información también permite establecer relaciones entre tradiciones mortuorias según período y ubicación geográfica [1]. Otro aspecto relevante es la posibilidad de identificar prácticas vinculadas al aprovisionamiento de materias primas mediante la comparación de las características composicionales entre muestras con diferentes orígenes a nivel geográfico y de yacimientos geológicos [5], [10].

Si bien mucha de la información obtenida esta necesariamente vinculada a los datos contextuales recabados de los sitios, el análisis por espectroscopia Raman también puede aportar información en materiales descontextualizados [5], [8].

Los estudios para caracterizar pigmentos también han generado aportes para la conservación de los materiales, ya sea mediante la detección de intervenciones anteriores como restauraciones y repintes [8], la detección de indicadores de alteración de procesos ocurridos durante el contexto arqueológico [2], [9] y la identificación de una alteración cromática provocada por colonización [6].

Sumado a los casos presentados, nuevos desarrollos tecnológicos de la técnica como la espectroscopia Raman de superficie mejorada (SERS) tienen potenciales de aplicación en identificación de pigmentos en otros materiales arqueológicos como son los textiles [11], así como su complementación con espectroscopia de plasma inducido por láser (LIBS) para análisis y diferenciación de pigmentos naturales de artificiales, que resulta ideal para materiales del registro arqueológico con intervenciones previas [12], situación común en los objetos arqueológicos sudamericanos [8].

5. CONCLUSIONES

El análisis de pigmentos permite resolver interrogantes arqueológicas claves relacionadas con aspectos tecnológicos, estilísticos y temporales de las culturas prehispánicas. Así mismo, para el diagnóstico y tratamiento de conservación del patrimonio arqueológico es necesario conocer las características materiales de este.

La espectroscopia Raman es una técnica adecuada para el análisis de pigmentos que se complementa con otros análisis de identificación de compuestos y sus estructuras, como son técnicas de microscopía óptica y electrónica (SEM, TEM), espectroscopia infrarroja (FT-IR), indagación sobre las fases cristalinas de los materiales (DRX) y técnicas elementales (FRX, EDS).

Si bien esta técnica es mínimamente invasiva, siempre se debe evaluar la información a obtener respecto a la necesidad de extraer muestras, prefiriendo, de ser posible instrumental que no lo requiera.

REFERENCIAS

- [1] J. P. Ogalde *et al.*, "Multi-instrumental characterization of two red pigments in funerary archaeological contexts from northern Chile," *Interciencia*, vol. 40, no. 12, pp. 875–880, 2015.
- [2] V. Puente, P. M. Desimone, J. P. Tomba, and J. M. Porto López, "Compositional variability of pigments of Belén-style prehispanic ceramics from El Bolsón Valley, Catamarca Province, Argentina," *J. Archaeol. Sci. Reports*, vol. 12, no. October, pp. 553–560, 2017, doi: 10.1016/j.jasrep.2017.03.007.
- [3] F. Moya, A. Troncoso, M. Sepúlveda, J. Cárcamo, and S. Gutiérrez, "Rock art paintings in the semiarid north of Chile: A first physical and chemical approach from the limari's river basin," *Bol. del Mus. Chil. Arte Precolomb.*, vol. 21, no. 2, pp. 47–64, 2016, doi: 10.4067/S0718-68942016000200004.
- [4] E. Tomasini, V. Palamarczuk, M. M. Zalduendo, E. B. Halac, J. M. Porto López, and M. C. Fuertes, "The colors of San José pottery from Yocavil valley, Argentine Northwest. Strategy for the characterization of archaeological pigments using non-destructive techniques," *J. Archaeol. Sci. Reports*, vol. 29, no. July 2019, p. 102123, 2020, doi: 10.1016/j.jasrep.2019.102123.
- [5] M. M. V. Campos and T. A. Aguayo, "Vibrational spectroscopy for the study of Chilean cultural heritage," *Herit. Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–10, 2015, doi: 10.1186/s40494-015-0047-0.
- [6] H. Morillas *et al.*, "Characterization of the Inkaterra rock shelter paintings exposed to tropical climate (Machupicchu, Peru)," *Microchem. J.*, vol. 137, pp. 422–428, 2018, doi: 10.1016/j.microc.2017.12.003.
- [7] D. Bersani and P. P. Lottici, "Raman spectroscopy of minerals and mineral pigments in archaeometry," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 47, no. 5, pp. 499–530, 2016, doi: 10.1002/jrs.4914.
- [8] A. Sánchez-Polo *et al.*, "An Archaeometric Characterization of Ecuadorian Pottery," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–11, 2019, doi: 10.1038/s41598-018-38293-w.
- [9] A. Rousaki *et al.*, "On-field Raman spectroscopy of Patagonian prehistoric rock art: Pigments, alteration products and substrata," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 105, pp. 338–351, 2018, doi: 10.1016/j.trac.2018.05.011.
- [10] M. Sepúlveda, S. Gutiérrez, M. C. Vallette, V. G. Standen, B. T. Arriaza, and J. J. Cárcamo-Vega, "Micro-Raman spectral identification of manganese oxides black pigments in an archaeological context in Northern Chile," *Herit. Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–6, 2015, doi: 10.1186/s40494-015-0061-2.
- [11] J. Lee, M. J. Kim, E. Van Elslande, P. Walter, and Y. Lee, "Identification of natural dyes in ancient textiles by time-of-flight secondary ion mass spectrometry and surface-enhanced Raman spectroscopy," *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 15, no. 11, pp. 8701–8705, 2015, doi: 10.1166/jnn.2015.11508.
- [12] K. M. Muhammed Shameem *et al.*, "Echelle LIBS-Raman system: A versatile tool for mineralogical and archaeological applications," *Talanta*, vol. 208, no. October 2019, p. 120482, 2020, doi: 10.1016/j.talanta.2019.120482.



Michele Dinator Esterio es alumna del Máster en Diagnóstico del Estado de Conservación del Patrimonio Histórico. Recibió el título de Diseñadora Gráfica en 2014 y el postítulo en Restauración del Patrimonio Cultural Mueble en 2018, ambos de la Universidad de Chile. Desde el 2018 trabaja en el área de estudio e intervención de la Unidad de Patrimonio Arqueológico y Etnográfico del Centro Nacional de Conservación y Restauración (Chile).

Raman y su aplicación en la caracterización de pigmentos: el caso de Peña Espada

Eva M. Pereda Rosales

Resumen— La espectroscopía Raman es una de las técnicas más adecuadas para la caracterización de pigmentos inorgánicos. Un ejemplo de ello, es el estudio realizado sobre la franja policroma conservada en el monumento megalítico de Peña Espada (Cantabria), cuyo análisis ha permitido desvelar su naturaleza y componentes, situarlo en el marco cronológico y plantear interrogantes sobre el uso de hematites en el contexto paleolítico y postpaleolítico.

Palabras Claves— Análisis, Espectroscopía Raman, Hematites, Megalitismo, Pigmentos.



1. INTRODUCCIÓN

La conservación de restos de pintura en estructuras megalíticas al aire libre es una circunstancia poco habitual. La falta de restos policromos que respondan a las mismas cronotipología y su fácil acceso, pueden generar cierta suspicacia sobre su antigüedad. La única posibilidad que permite contrastar su autenticidad, es la realización de estudios de caracterización que determinen la naturaleza de los componentes presentes en la zona policromada.

En este sentido, la espectroscopía Raman es una de las técnicas que mayor difusión está alcanzando en el análisis del patrimonio, por su carácter no destructivo o mínimamente invasivo. Su utilidad en la identificación de pigmentos minerales la hace especialmente adecuada para el estudio del megalito de Peña Espada (Cantabria), facilitando así, el estudio comparativo con restos de las mismas características, así como el descarte de posibles trazas de compuestos sintéticos.

2. LA ESPECTROSCOPIA RAMAN COMO MÉTODO DE CARACTERIZACIÓN

2.1. Principios básicos del sistema Raman

Los métodos espectroscópicos se basan en el estudio de la energía absorbida, emitida o dispersada por un material al ser irradiado por un haz de luz a una determinada longitud de onda. Esta interacción produce transiciones en los niveles de energía de la materia, generando un espectro característico de cada elemento.

Cuando un haz de luz incide sobre una muestra, la energía se dispersa de forma elástica (dispersión Rayleigh), de tal manera que la luz incidente y la dispersada tienen la misma frecuencia. Sin embargo, C. V. Raman descubre, en 1928, el fenómeno de dispersión inelástica de la luz, por el cual, una pequeña porción de la energía se dispersa cambiando de frecuencia. Este cambio permite identificar los compuestos moleculares a partir de las vibraciones producidas en sus enlaces, que coinciden con la diferencia de energía incidente y dispersada.

El sistema debe contar, en términos genéricos, con una fuente de luz monocromática, un sistema óptico capaz de conducir el láser hacia la muestra y la luz dispersada hacia el elemento analizador- y un detector, que puede ser fotomultiplicador, de diodo o multicanal (CCD) según el tipo de luz pulsada [1].

Asimismo, el acoplamiento de un microscopio confocal al espectrómetro Raman ha dado paso a la microscopía Raman, capaz de analizar micromuestras en torno a 3-6 micrones [2]. Por último, cabe señalar, el desarrollo de equipos portátiles, que permiten realizar mediciones *in situ* [3] sin necesidad de extraer muestras, lo que les hace muy versátiles y atractivos en el análisis del patrimonio.

2.2. Análisis y caracterización de pigmentos

La espectroscopía Raman, junto a la IR, son métodos de análisis que proporcionan información molecular del material analizado a través de sus espectros vibracionales. Estos últimos, son característicos de cada molécula, por lo que pueden considerarse como su “huella dactilar” [1].

Ambas técnicas son complementarias, ya que aportan información diferente sobre una misma sustancia. De hecho, la espectroscopía Raman presenta una serie de inconvenientes, como la aparición de interferencias, fenómenos de fluorescencia o generación de ruido [2] [3], menos habituales en otras técnicas de análisis. Sin embargo, su rango de detección de vibraciones moleculares en la zona de 100-400 cm^{-1} lo hace idóneo para la identificación de pigmentos minerales menos accesibles en espectrómetros de IR medio [1].

3. UN EJEMPLO METODOLÓGICO: EL MONUMENTO MEGALÍTICO DE PEÑA ESPADA

3.1. Contexto arqueológico

El monumento megalítico de Peña Espada forma parte de un afloramiento rocoso situado a 1094 m en el monte Mojón, cercano al pueblo de la Serna de Ebro (Valderredible, Cantabria). Se trata de un bloque de piedra arenisca de 4,9 x 2,6 m y una altura máxima de 2 m, que presenta, en una de sus caras, un grabado poco profundo en forma de línea vertical de dimensiones regulares (figura 1).

Esta franja, conserva policromía de tonalidad roja, más abundante en la parte inferior, por pérdida y difusión del material conforme la línea se acerca a la cima. En la parte superior, se registran dos grabados con forma circular de unos 40 cm, y un trazo inciso más fino en forma de "Y".



Fig. 1. Megalito de Peña Espada. Fuente: Antxoka Martínez.

Este megalito formaría parte del conjunto de manifestaciones post-paleolíticas encuadradas en el sur de Cantabria y provincias limítrofes [4], en su mayoría, grabados sobre soportes rocosos. Entre otros, cabe destacar el conjunto de Monte Hijedo, el ídolo de Ruanales, el Redular o el abrigo del Cubular, todos ellos con representaciones esquematizadas que los expertos sitúan en época Calcolítica [5], hace aproximadamente 4000 años.

3.2. Extracción de muestras

Como ya se ha señalado, la facilidad de acceso al monumento y la realización de una cata clandestina de unos 70 cm de profundidad [4], llevaron al equipo investigador a plantear dudas sobre la antigüedad del trazo policrómo, por lo que se realizó una comprobación analítica para la caracterización del pigmento. Los resultados obtenidos del análisis podrían constatar o descartar que éste se hiciera en momentos actuales a partir de la presencia de compuestos sintéticos en la mezcla. Con este fin, se extrajeron dos muestras de dos zonas distintas del trazo (figura 2), que fueron trasladadas al Grupo de Altas Presiones y Espectroscopía del Departamento de CITIMAT, de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Cantabria, donde se realizó el análisis por espectroscopía Raman.

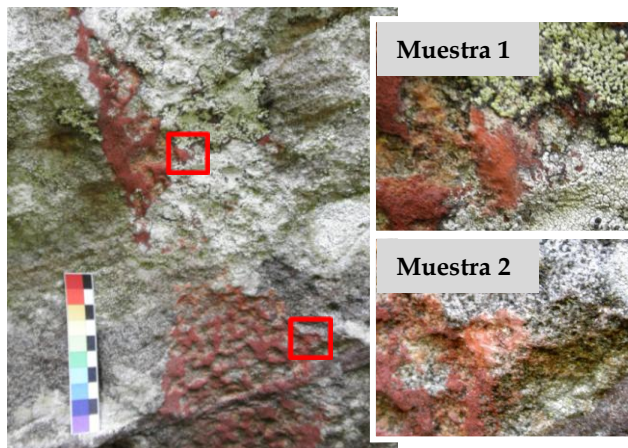


Fig. 2. Zona de extracción de las Muestras 1 y 2 del área policromada del megalito. Fuente: Eva M. Pereda

3.3. Resultados y discusión

El análisis Raman se realizó sobre las muestras en polvo dispuestas en un microscopio confocal con diafragma de 100 micras y objetivo de 20X. Para ello, se utilizó un triple monocromador T64000 con detector CCD enfriado a nitrógeno líquido y un láser de excitación de Kriptón-Argón a 647 y 488 nm. El potencial empleado sobre la muestra fue de 2mW para evitar señales indeseadas debido al calentamiento del láser.

Los resultados obtenidos de los análisis revelaron que ambas muestras de pigmento rojo estaban compuestas por hematita, Fe_2O_3 . La muestra 1 presentaba, a su vez, una fase negra adicional cuyo espectro coincidía con una mezcla de hematita y goetita, $\text{FeO}(\text{OH})$. Se observaron, asimismo, trazas de grafito y varios materiales a baja frecuencia (125 cm^{-1}) cuya asignación no fue definitiva, barajándose la posibilidad de dióxido de manganeso, MnO_2 , o sulfato cálcico, CaSO_4 [4] (figura 3).

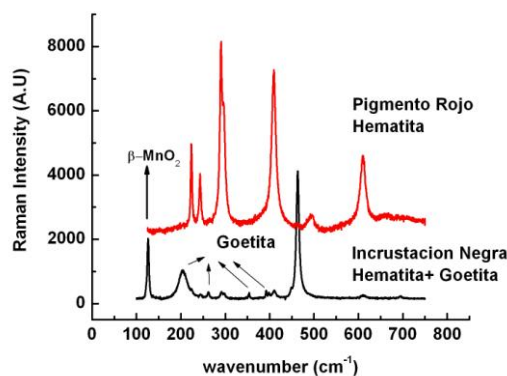


Fig. 3. Comparación de espectros Raman de la Muestra 1 del pigmento rojo y de la fase negra. Fuente: J. A. González Gómez.

Se pudo comprobar, por tanto, que se trataba de pigmentos minerales, paralelos a los asignados a manifestaciones gráficas policromas de cronotipologías cercanas [4]. Los denominados "ocres", ampliamente constatados en las coloraciones rojas de pinturas rupestres paleolíticas y postpaleolíticas [6] [7], son compuestos de óxido e hidróxido de hierro compactados, en ocasiones, con otros elementos. Es habitual, por tanto, identificar goetita, manganeso, pirolusita o calcita asociados de forma natural a las hematites, tal y como se infiere de la Muestra 1.

Por su parte, la goetita, en el contexto rupestre, tiene también una representatividad relevante, pero asociada a pigmentos de color amarillo, como en el caso de La Garma [6]. Su presencia en tonalidades rosas y marrones se ha podido constatar también en paneles de Lascaux [6] o Altamira [8], si bien, se da a nivel de trazas.

Cabe señalar, que los procesos de hidratación y deshidratación de los óxidos de hierro son fundamentales en su génesis, llegando a determinar su composición, cristalinidad y cromatismo. En este sentido, la goetita puede sufrir procesos de deshidroxilación, pasando a formar una fase anhidra que da lugar a hematites [7]. Esta nueva forma de hematites presenta una estructura desordenada y un tono rojo vivo, fruto de la deshidratación de la goetita, en procesos de calentamiento superiores a 260°C [9];

un metamorfismo que puede tener origen natural o antrópico, como se ha llegado a sugerir desde distintos ámbitos de la investigación [7] [9]. En este último caso, la goetita habría sido sometida al fuego de manera intencionada para la obtención de hematitas anormalmente cristalizados, cuyo color tendría más viveza.

Siguiendo un planteamiento a la inversa, podría barajarse la posibilidad de que ciertas fases de hematitas hubiesen sufrido un proceso de hidratación, relativamente común en climas húmedos, que diesen lugar a hidróxidos, como la goetita presente en la Muestra 1.

Por último, y con relación a los materiales detectados a baja frecuencia en esta muestra, se podrían considerar estudios análogos en los que se han identificado concreciones carbonáticas a 150 cm⁻¹ en muestras de hematita [10], cuya formación se atribuye a fenómenos de biomineralización o señales Raman de restos del soporte rocoso.

4. CONCLUSIONES

La hematita es el mineral más utilizado en entornos rupestres para la utilización del rojo y, su caracterización en Peña Espada a través de la espectroscopía Raman, atestigua este hecho, al tiempo que permite descartar su reciente realización.

Los resultados del estudio espectroscópico coinciden en ambas muestras si bien, la Muestra 1 presenta una fase hematita+goetita que puede aportar ciertos interrogantes con relación a su factura. La presencia de los dos minerales es relativamente habitual, pero no se ha considerado si su asociación es natural o antrópica. Por otra parte, se han detectado otros elementos a baja frecuencia en la misma muestra cuya asignación no ha sido definitiva, planteando interrogantes sobre su naturaleza y asociación.

La espectroscopía Raman se erige como una técnica de análisis idóneo para la caracterización de pigmentos inorgánicos por su versatilidad y carácter inocuo. Su utilidad en este estudio ha permitido desvelar unas incógnitas y plantear otras. En este sentido, sería interesante conocer la estructura cristalina de la hematita para comprobar si se ha producido metamorfización y por tanto, recristalización de la misma. La combinación del método Raman con técnicas de análisis geoquímico, como EDX y MEB, permitiría confirmar los componentes de la muestra, desvelar aquellos no identificados y generar una imagen cristalográfica para complementar la información obtenida en este estudio.

AGRADECIMIENTOS

La autora desea agradecer su trabajo a Jesús Antonio González Gómez, del Grupo de Altas Presiones y Espectroscopía de la Universidad de Cantabria, así como a todo el equipo de arqueólogos que llevaron a cabo la investigación del megalito de Peña Espada.

REFERENCIAS

[1] C. Domingo, "Técnicas de espectroscopía Raman aplicadas en conservación", *La Ciencia y el Arte III. Ciencias experimentales y conservación del patrimonio*, pp. 73-88, 2011.

- [2] L. J. Sánchez-Aparicio, "La espectroscopía Raman aplicada al análisis de alteraciones en fábricas pétreas", *MoleQla*, no. 31, pp. 7-9, 2018 [En línea]. Disponible en https://www.upo.es/cms1/export/sites/upo/moleqla/documentos/Numero31/Numero_31.pdf [Accedido: 8-ene-2020].
- [3] J. M. Madariaga, "La espectroscopía Raman portátil, una herramienta de diagnóstico en Patrimonio imprescindible en el futuro", *La ciencia y el Arte VI. Ciencias experimentales y conservación del patrimonio*, pp. 37-52, 2017.
- [4] A. Martínez, L. T. Teira, R. Ontañón, M. L. Serna, E. M. Pereda, M. Arcera, J. A. González y D. Hernández, "Peña Espada (La Serna de Ebro, Valderredible)", *Después de Altamira: arte y grafismo rupestre post-paleolítico en Cantabria*, A. Serna Gancedo, A. Martínez Velasco y V. Fernández Acebo, eds., Acanto, Santander, pp. 353-359, 2016.
- [5] R. Balbín Behrman y P. Bueno Ramírez, "El arte esquemático y megalítico del centro de Cantábrico: Cantabria", *Después de Altamira: arte y grafismo rupestre post-paleolítico en Cantabria*, A. Serna Gancedo, A. Martínez Velasco y V. Fernández Acebo, eds., Acanto, Santander, pp. 25-43, 2016.
- [6] S. Alonso Gutiérrez, "Análisis y caracterización de los pigmentos de la cueva de la Fuente del Salín (Muñorrodero, Cantabria): una aproximación desde la arqueología experimental", Facultad de Filosofía y Letras, UC, Cantabria, 2018 [En línea]. Disponible en <http://hdl.handle.net/10902/14897> [Accedido: 27-feb-2020].
- [7] A. Cortell Nicolau, "Ocre, hematitas y óxido de hierro: el problema terminológico", *Espacio, Tiempo y Forma*, no. 9, pp. 13-42, 2016.
- [8] F. Rull, F. Gázquez, J. Medina, A. Sanz, C. de las Heras, A. Prada, J. A. Lasheras y J. M. Calaforra, "Caracterización de pigmentos utilizados en el arte rupestre de la Cueva de Altamira", *Revista de la Sociedad Española de Mineralogía*, no. 19, 2014.
- [9] C. Álvarez Romero, "Los pigmentos en la Prehistoria: proyecto de experimentación térmica con óxidos e hidróxidos de hierro", *Boletín de Arqueología Experimental*, no 9, pp 25-42, 2012.
- [10] F. Gázquez, F. Rull, J. M. Calaforra y E. Guirado, "Análisis no destructivo e in situ de minerales y pigmentos por espectroscopía Raman", *CuevaTur: I Congreso Iberoamericano y V Congreso Español sobre cuevas turísticas*, pp. 54-65, oct. 2014.



Eva M. Pereda Rosales recibió el título de Licenciada en Bellas Artes por la Universidad de Sevilla en 2000, con la especialidad de Conservación y Restauración. Desde el año 2001 trabaja como restauradora, especializándose en la conservación del patrimonio arqueológico. En la actualidad es técnico en conservación-restauración del Museo de Prehistoria y Arqueología de Cantabria y está cursando el máster de Diagnóstico del Patrimonio en la Universidad Pablo de Olavide.

El dengue: uno más entre nosotros

Miguel Padilla Blanco

Resumen—El virus del dengue pertenece a la familia *Flaviviridae*, siendo un virus de ARN de cadena simple. Se transmite por el mosquito *Aedes aegypti* y se encuentra distribuido por todo el mundo, desde África a América del Sur, pasando por Europa y Asia. Su infección no suele provocar efectos muy negativos ya que la enfermedad que suele producir en la mayoría de los casos es la fiebre del dengue, aunque puede provocar la aparición de fiebres hemorrágicas e incluso la muerte. Por ello, en la actualidad se trata de encontrar vacunas para intentar combatir su infección, siendo Dengvaxia la única que se ha comercializado hasta la fecha y con la que se han conseguido buenos resultados, aunque todavía se tiene que mejorar en su estudio.

Palabras Claves— Serotipo, infección, antígeno, anticuerpo, vacuna.

1. INTRODUCCIÓN

El Dengue es la infección viral más común transmitida por artópodos, concretamente por el mosquito *Aedes aegypti*. Esta enfermedad es endémica en más de cien países africanos, las Américas, países del Mediterráneo Oriental, del sureste asiático y del oeste del Pacífico. Además, se encuentra distribuido por el resto del mundo, incluyendo países europeos entre los que se encuentra España. Actualmente se conocen cuatro serotipos distintos del virus del dengue (DENV) y cada uno de estos serotipos puede provocar la aparición de síntomas, pudiendo ser estos síntomas desde enfermedades leves como la fiebre del Dengue (DF) a otras más graves, como la fiebre del dengue hemorrágica (DHF) o el síndrome shock por dengue (DSS). [1,2,3]

En este trabajo se tratará de comprender cómo afecta el DENV al sistema inmune y también se analizarán las vacunas y posibles medidas para intentar que no infecte a los humanos y, en consecuencia, se pueda erradicar.

2. ASPECTOS GENERALES DEL VIRUS DEL DENGUE

2.1. Estructura del virus

El DENV es un virus envuelto de cadena simple (+) de ARN perteneciente a la familia *Flaviviridae*. Los viriones maduros contienen tres proteínas estructurales que derivan del procesamiento de una poliproteína que se produce como consecuencia de la traducción de la molécula de ARN: la proteína de la cápsida (C), la de la membrana (M) y la de la envuelta (E). Además, presenta siete proteínas no estructurales (NS): NS1, NS2A, NSB, NS3, NS4A, NS4B y NS5. La nucleocápside está rodeada por una bicapa lipídica derivada de la célula hospedadora en la que se encuentran ancladas las proteínas M y E. En cuanto a su estructura, cabe destacar que el virus posee una envuelta icosaédrica mientras que el centro de la nucleocápside es esférico (Figura 1). [1,3]

Como se ha mencionado anteriormente, existen cuatro serotipos del virus del dengue (DENV1-4). Los cuatro serotipos comparten aproximadamente un 80% de homología a nivel de aminoácidos en toda la región codificante

del genoma. La glicoproteína de la cápsida está conservada un 70% en los cuatro serotipos, conteniendo regiones que se conservan totalmente, sin ninguna variación, y otras que contienen secuencias altamente divergentes. Como determinaron los análisis filogenéticos, dentro de cada serotipo se encuentran múltiples genotipos genéticamente distintos, que están más relacionados entre ellos que con los de los otros serotipos. [1,3]

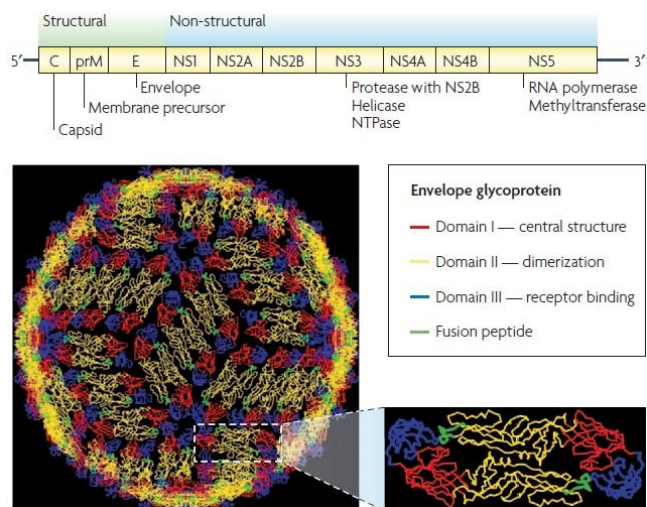


Figura 1. Estructura del virus del dengue. [4]

2.2. Entrada e infección

El virus del dengue hace uso de receptores de membrana para unirse a la membrana plasmática y finalmente entrar en el citoplasma. El virión maduro se une directamente a un receptor de membrana para finalmente desencadenar la vía endocítica dependiente de clatrina. La vesícula endocítica se convierte en un endosoma tardío, donde la acidificación desencadena cambios conformacionales en la proteína E, lo que provoca la formación de poros en la membrana de la célula, liberándose el material genético del virus al citoplasma. [1,3]

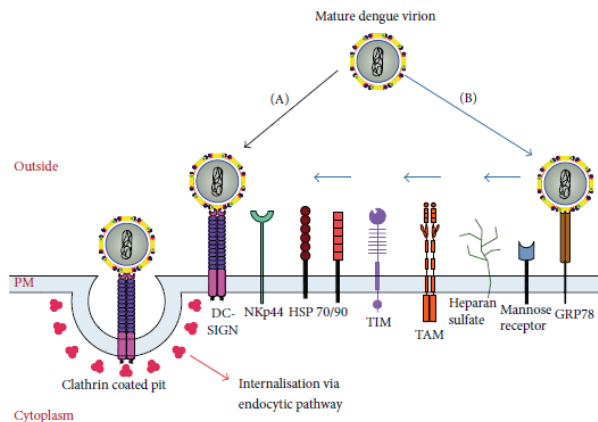


Figura 2. Entrada del virus del dengue en la célula eucariota [1]

Las principales células diana para la infección del DENV son las células de la línea mononuclear fagocítica (monocitos, macrófagos y células dendríticas), que son células que tienen receptores Fc (FcR). Esto conduce a la infección de estas células y así, para cargas víricas altas, resulta en la activación de los linfocitos T en una primera etapa del proceso de infección. Como consecuencia, se liberan altas cantidades de citoquinas que pueden conducir al daño de células endoteliales y a la subsecuente fuga de plasma. [1,3]

La primera línea de defensa contra la infección del DENV es la producción de interferones (INFs), proceso que llevan a cabo principalmente las células dendríticas, aunque también lo realizan otros tipos celulares que han sido infectados. La producción de IFN es iniciada cuando el virus interactúa con el patógeno y reconoce los receptores (PRRs), como las lectinas del tipo C y los receptores TLRs que son expresados en las células de la línea mielóide. Las lectinas del tipo C participan en la inducción de una respuesta innata cuando el virus infecta. Los PRRs activos transmiten su señal a través de varios factores de transcripción, que en último lugar inducen la expresión de IFN. Los IFN secretados se unen a los receptores de IFN presentes en las mismas células y también en células vecinas. Esto activa la ruta JAK/STAT, conduciendo a la expresión de más de 100 proteínas efectoras. Por tanto, las respuestas que inducen los IFN inician una gran variedad de procesos encaminados a detener la infección del virus. Además, estas respuestas promueven una respuesta inmune adaptativa a través de la estimulación de la maduración de células dendríticas y por la acción directa de linfocitos T y B. [1,3]

2.3. Infección primaria y secundaria del virus

La infección primaria se produce cuando cualquiera de los cuatro serotipos del virus del dengue infecta a un individuo por primera vez. En la infección primaria se producen grandes cantidades de anticuerpos del tipo inmunoglobulina M (IgM) y de inmunoglobulina G (IgG), apareciendo en los días 3-5 y 6-10, respectivamente, tras la infección. La presencia de IgM desaparece a los 2-3 meses de la infección, mientras que la IgG permanece durante

toda la vida. Por lo tanto, la infección primaria de un serotipo particular provee inmunidad a largo plazo contra dicho serotipo. Sin embargo, no lo protege frente a la infección por otros serotipos. [1,3]

Una infección secundaria (segunda exposición al mismo serotipo del virus), provocará una respuesta inmune más rápida, ya que activará al sistema inmune adaptativo, por lo que no provocaría ninguna consecuencia negativa a largo plazo. Sin embargo una infección con otro serotipo del DENV distinto al de la primera resulta en una clásica DF, pero en el 2-3% de los casos puede producir DHF, que pueden progresar a DSS e incluso a la muerte del individuo infectado. Durante la infección secundaria con un serotipo diferente, la presencia de bajas cantidades de anticuerpos heterotípicos promueve el acceso del virus a monocitos, vía receptores Fc, conduciendo a un aumento en la carga viral y a la severidad de la enfermedad. [1,3]

3. VACUNAS

Aunque actualmente se encuentran dos candidatos a vacuna en fase III, la única vacuna permitida que existe actualmente para combatir el dengue es la vacuna Dengvaxia. Es una vacuna recombinante tetravalente, viva atenuada. Esta vacuna expresa genes estructurales que codifican la proteína de membrana de la envuelta de cada uno de los cuatro serotipos. [5, 6]

Estudios recientes con Dengvaxia demuestran la alta eficacia de la vacuna en personas seropositivas (aquellas que habían sido infectadas antes de ser vacunadas), mientras que en personas seronegativas (las que no habían sido infectadas antes de su vacunación), mostraba una menor eficacia. Además, en seronegativos, la vacuna actuaría como una primera infección con uno de los serotipos (no se sabe concretamente a que serotipo imita la vacuna), por lo que, si el individuo se infectase con un serotipo distinto, se produciría la enfermedad. [7]

Debido a que su uso no es preventivo, ya que se recomienda sólo en personas que han sido infectadas anteriormente, es esencial desarrollar nuevas vacunas contra este virus. Además, Dengvaxia es una vacuna que genera pocos anticuerpos neutralizantes, por lo que no conseguiría parar la infección en todos los individuos. Por ello, estudios recientes en más de 300 anticuerpos monoclonales han conducido al descubrimiento de epítomos neutralizantes potentes, dirigidos principalmente contra la proteína E del virus. Así, actualmente se está tratando de descubrir anticuerpos monoclonales potentes contra la proteína E del DENV, por lo que es un área muy interesante en la que todavía queda mucho trabajo por hacer. [7]

4. CONCLUSIONES

Aunque pueda parecer que la mayoría de los síntomas que se generan por la infección del virus del dengue son

débiles, esto no implica que no haya que intentar erradicar la enfermedad. Así, como se ha tratado en este artículo, se está tratando de buscar vacunas para poder combatirlo, estando muy avanzados sus estudios pero sin haber alcanzado el objetivo por completo. Además, este virus no sólo está presente en países de África y América del Sur, sino que también se encuentra en Europa, y más concretamente en España, habiéndose encontrado casos de infección por este virus en Barcelona desde los años 2014 a 2016.

REFERENCIAS

- [1] Khetarpal N. & Khanna I. (2016). Dengue fever: causes, complications, and vaccine strategies. *Journal of Immunology Research*, 2016:6803098
- [2] González F., Camprubí E., Fernández L., Millet J. P., Peracho V., Gorrindo P., Avellanés I., Romero A. & Caylà J. A. (2017). Confirmed dengue, chikungunya and zika cases during the period 2014 to 2016 in Barcelona, Spain. *Revista Española de Salud Pública*, 91:e201701027
- [3] Tsai W-Y., Lin H-E. & Wang W-K. (2017). Complexity of human antibody response to dengue virus: implication for vaccine development. *Frontiers in Microbiology*, 8:1372.
- [4] Whitehead S. S., Blaney J. E., Durbin A. P. & Murphy B. R. (2007). Prospects for a dengue virus vaccine. *Nature Reviews. Microbiology*, 5(7):518-528
- [5] Gallichotte E., Baric T. J., Nivarthi U., Delacruz M., Graham R., Widman D. G., Yount B. L., Durbin A. P., Whitehead S. S., de Silva A. M. & Baric R. S. (2018). Genetic variation between dengue virus type 4 strains impacts human antibody binding and neutralization. *Cell Reports*, 25(5):1214-1224
- [6] Scott L. J. (2016). Tetravalent dengue vaccine: a review in the prevention of dengue disease. *Drugs*, 76(13):1301-1312
- [7] Rodenhuis-Zybert I. A., Wilschut J. & Smit J. M. (2010). Dengue virus life cycle: viral and host factor modulate infectivity. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(16):2773-2786



Miguel Padilla Blanco. Graduado en Biotecnología por la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla

VACUNAS CONTRA EL CÁNCER: UN PASO ADELANTE EN LA BATALLA

Míriam Campillo Prados

Resumen— El cáncer sigue siendo una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. Es por ello, que estudios dedicados a entender el mecanismo de crecimientos de tumores y de cómo el organismo reacciona ante ellos es esencial. Una de las herramientas usadas en los últimos años para combatir esta enfermedad son las vacunas contra el cáncer.

Palabras Claves— células dendríticas, respuesta humoral, respuesta celular, neoantígenos, adyuvantes.

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo por parte de Edward Jenner de la primera vacuna en 1796 supuso una contribución enorme a la salud pública. Esta primera vacuna permitió hacer de la viruela la primera y única infección humana totalmente erradicada [1].

Las vacunas siempre han tratado enfermedades infecciosas. Sin embargo, actualmente se están desarrollando otros tipos de vacunas que tratan distintas patologías, como el cáncer. Actualmente existen algunas vacunas terapéuticas aprobadas por la FDA (U.S. Food and Drug Administration) que tratan tumores, , como Provenge, una vacuna de células dendríticas que se encarga de tratar la metástasis resistente de cáncer de próstata [2].

Estas vacunas se presentan como una esperanza en la batalla contra el cáncer. Según las estadísticas de la OMS, esta enfermedad es la segunda causa de mortalidad a nivel mundial; siendo el cáncer de pulmón el que mayor número de muertes causa [3].

2. LA INMUNIDAD DEL CÁNCER

Las células cancerosas acumulan diferentes errores genéticos, lo que provoca la alteración de distintos procesos celulares y la producción de ciertas moléculas llamadas neoantígenos [4]. Las

células, a través de su complejo de histocompatibilidad de clase I (MHC-I), presentan estos antígenos en su exterior celular, lo cual permite diferenciar estas células de sus compañeras sanas. Este MHC-I será reconocido por linfocitos T CD8+, lo cual provoca finalmente la activación de la respuesta inmune.

Ciclo cáncer-inmunidad:

A través de este proceso el organismo intentará eliminar las células que presentan diversas anomalías, signo de que algo está fallando.

1. En el primer paso de este ciclo, las células cancerosas irán fabricando sus moléculas o neontígenos, señales de advertencia. Para que se lleve a cabo una respuesta eficiente mediada por los linfocitos T, la señal de estas moléculas producidas por la célula cancerosa debe de ir acompañada de otras moléculas, tales como citoquinas proinflamatorias o diversos factores que produce la microbiota.
2. Estas señales van a ser procesadas por las células dendríticas.
3. Se produce, como consecuencia, la activación de la respuesta de los linfocitos T efectoras contra estos antígenos propios

de estas células cancerosas.

4. Estos linfocitos T se dirigirán a través de la sangre a la zona donde se encuentre estas células cancerosas.
5. Los linfocitos T se adentran en la zona del tumor.
6. Una vez llegan a la zona del tumor, interaccionan mediante sus receptores (TCR) con el MCHI.

Estos linfocitos se deshacen de las células cancerígenas y el ciclo comienza de nuevo.

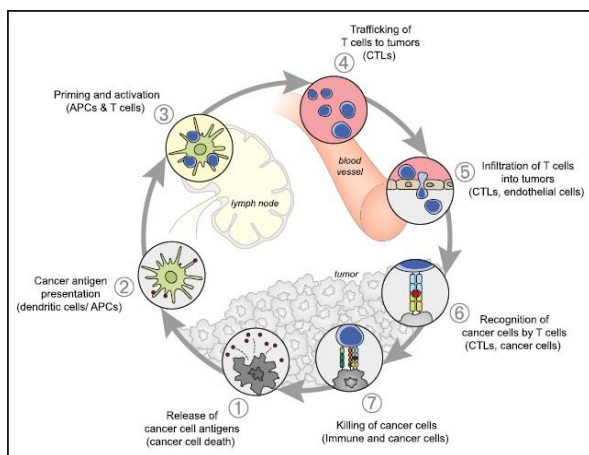


Figura 1: Ciclo cáncer-inmunidad [4]

3. CREACIÓN DE VACUNAS CONTRA EL CÁNCER

En los últimos años las vacunas contra el cáncer han ido ganando popularidad. Combinar el uso de estas vacunas con otro tipo de tratamientos como la radioterapia, inmunoterapia y/o quimioterapia podría suponer un incremento de la respuesta contra la proliferación de estas células [2].

- Vacunas de neoantígenos:

Basando la creación de estas vacunas en la respuesta que lleva a cabo el organismo para combatir la aparición de células cancerígenas, los neoantígenos producidos por las masas tumorales se presentan como candidatos ideales a la hora de

elaborar este tipo de vacunas. Además, hoy en día existen bases de datos que permiten identificarlos. Se basan en la predicción de las interacciones de con los péptidos del complejo de histocompatibilidad, a través de la ANN (artificial neuronal network) y la PSSM (position specific scoring matrices) [5]. Se entrena el algoritmo a partir de datos obtenidos midiendo la afinidad entre la interacción de estas proteínas.

Combinando todas estas técnicas se puede llegar a describir el antigenoma (combinación tanto de neoantígenos como de antígenos propios) del paciente en concreto. Además, no simplemente se podría usar un único neoantígeno, sino que se puede usar una variedad de ellos para conferir inmunidad al paciente. Comparada con una vacuna de péptido único, incrementa la posibilidad de respuesta de los linfocitos T contra este cáncer. También podría disminuir la posibilidad de algunos clones tumores para escapar los procesos de selección [6].

Desafortunadamente, a este tipo de vacunas aún le queda un largo camino por recorrer hasta que se lleguen a perfeccionar del todo. Aún así, como prueba de concepto, resulta una alternativa bastante plausible que podría permitir el avance en la lucha contra el cáncer.

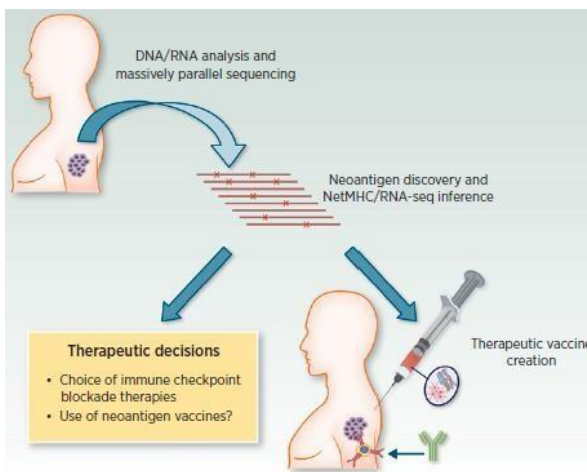


Fig 2: Estrategia de elaboración de una vacuna basada en el uso de neoantígenos del paciente [6]

- Vacunas de células dendríticas:

No obstante, existen otros tipos de vacunas. Un ejemplo claro son las vacunas basadas en células dendríticas. Estas células juegan un papel fundamental en la mediación de la respuesta inmune innata, y en la inducción a la adaptación del sistema inmune [7].

Para ello, las células dendríticas van a ser activadas *in vitro* por antígenos específicos de tumores y luego inyectadas en el cuerpo del paciente. Como consecuencia, se producirá una respuesta antígeno específica, que estimulará a los linfocitos T citotóxicos, los cuales destruirán a todas aquellas células que presenten los antígenos que se les presentaron a las células dendríticas *in vitro* anteriormente [8]. Sin embargo, estas han demostrado tener más eficacia cuando se suministran con adyuvantes. De hecho, una buena selección de estos resulta clave en la activación de un perfil determinado de células dendríticas [9]. Estas vacunas han demostrado ser eficientes, pues se ha observado infiltración de linfocitos T en el microambiente del tumor

- Vacunas de ADN:

Este tipo de vacunas son consideradas estrategias muy prometedoras para combatir tumores. Se tratan de plásmidos bacterianos que codifican para distintos antígenos que modulan la respuesta inmune del organismo. Pueden ser suministradas vía intramuscular (IM), intradrenal (ID), de manera subcutánea (SC) o a través de la mucosa [10].

Una vez suministrada la vacuna, son algunos los métodos que se pueden usar con el fin de que las moléculas de ADN sean introducidas en las células. Electroporación o sonoporación serían dos de los métodos posibles.

En un principio las células transfectadas son incapaces de iniciar una respuesta inmune contundente, pues no son aún células presentadoras de antígenos (APC). Es por ello que las células dendríticas van a ser atraídas al foco de la transfección, donde se ha generado citoquinas e

inflamación. Estas APC se van a encargar de capturar los antígenos que han sido producidos por aquellas células transfectadas, bien por quimioquinas presentes en el vector o bien gracias a quimioquinas suministradas en la propia vacuna [11]. Ese antígeno fagocitado luego va a ser presentado a los linfocitos T ayudantes vía MHC-II, resultando en la activación de la respuesta humoral [12]. De manera alternativa, este antígeno puede ser presentado por el MHC-I a linfocitos T citotóxicos, activando en este caso la respuesta celular.

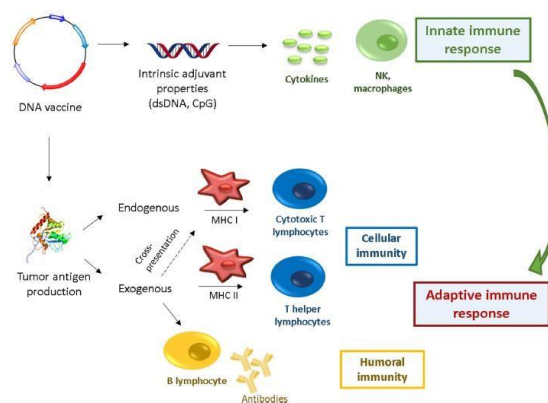


Fig 3: Respuesta innata y adaptativa inducida por las vacunas de ADN [10].

Las vacunas de ADN presentan ciertas ventajas con respecto a los tipos de vacunas comentados anteriormente. De hecho, se consideran vacunas muy seguras y efectivas, incluso en casos de metástasis. Además, el ADN es fácilmente conservable [10].

4. CONCLUSIONES

Aunque estas vacunas se presenten como una gran oportunidad de avanzar en la lucha contra el cáncer, aún se necesitan realizar profundos estudios en este campo. De hecho, las pocas vacunas que han sido aprobadas a día de hoy solo han producido una leve mejora, lo que indica la necesidad de seguir invirtiendo en su desarrollo y en la búsqueda de distintas terapias combinadas que posibiliten un descenso más efectivo de células tumorales, como podrían ser tanto la radioterapia como la quimioterapia [11].

Además, es crucial la investigación en buenos modelos preclínicos que permitan estudiar con profundidad los efectos de los diferentes tipos de vacunas en la activación del sistema inmune, junto con el uso de distintos adyuvantes que permita mejorar dicha respuesta [11].

Por lo tanto, la investigación en profundidad de estos mecanismos, junto con el desarrollo de biomarcadores predictivos que faciliten la elección de un buen antígeno que produzca una respuesta inmune efectiva, será la clave para hacer que este tipo de vacunas se desarrollen adecuadamente [12].

REFERENCIAS

- [1] Greenwood, B. (2014). The contribution of vaccination to global health: Past, present and future. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1645).
- [2] Gatti-Mays, M. E., Redman, J. M., Collins, J. M., & Bilusic, M. (2017). Cancer vaccines: Enhanced immunogenic modulation through therapeutic combinations. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 13(11), 2561–2574
- [3] <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/cancer> (Fecha de consulta: 24-12-19)
- [4] Chen, D. S., & Mellman, I. (2013). Oncology meets immunology: The cancer-immunity cycle. *Immunity*, 39(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.07.012>
- [5] Desrichard, A., Snyder, A., & Chan, T. A. (2016). Cancer neoantigens and applications for immunotherapy. *Clinical Cancer Research*, 22(4), 807–812. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-3175>
- [6] Desrichard, A., Snyder, A., & Chan, T. A. (2016). Cancer neoantigens and applications for immunotherapy. *Clinical Cancer Research*, 22(4), 807–812. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-3175>
- [7] Desrichard, A., Snyder, A., & Chan, T. A. (2016). Cancer neoantigens and applications for immunotherapy. *Clinical Cancer Research*, 22(4), 807–812. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-3175>
- [8] Sabado, R. L., Balan, S., & Bhardwaj, N. (2017). Dendritic cell-based immunotherapy. *Cell Research*, 27(1), 74–95. <https://doi.org/10.1038/cr.2016.157>
- [8] Dong, X., Duan, X., Sun, Z., Zhang, X., Li, C., Yang, S., ... Dionysiou, D. D. (2019). Journal of Applied Catalysis B, Environmental, 118214 <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.118214>
- [9] MacKeon, S., Ruiz, M. S., Gazzaniga, S., & Wainstok, R. (2015). Dendritic cell-based vaccination in cancer: Therapeutic implications emerging from murine models. *Frontiers in Immunology*, 6(MAY), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00243>
- [10] Lopes, A., Vandermeulen, G., & Pr at, V. (2019). Cancer DNA vaccines: current preclinical and clinical developments and future perspectives. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 38(1), 1–24. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1154-7>
- [11] Woalder. (2017). 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiology & Behavior*, 176(1), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- [12] Yang, B., Jeang, J., Yang, A., Wu, T. C., & Hung, C. F. (2014). DNA vaccine for cancer immunotherapy. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 10(11), 3153–3164. <https://doi.org/10.4161/21645515.2014.980686>



Miriam Campillo Prados.

Estudiante de 4º curso de
Biotecnología en la Universidad
Pablo de Olavide (UPO)

Biocombustibles y producción de biohidrógeno

Manuel Garrido Romero

Resumen

El aumento de la población mundial, el hecho de que cada vez haya mayor dependencia hacia los productos producidos con petróleo y su desmedido uso provoca problemas medioambientales como el calentamiento global. Al ser un tema de preocupación mundial, se buscan nuevas fuentes que sean capaces de producir energía para reemplazar a los combustibles fósiles, en este sentido, se han desarrollado combustibles producidos por procesos biológicos o por biomasa de organismos vivos para tratar de reducir la huella de carbono y para mitigar los efectos producidos por el cambio climático. El hidrógeno producido por microorganismos o biohidrógeno presenta un gran potencial para ser usado como fuente de energía renovable ya que, a diferencia de las técnicas químicas para su obtención los microorganismos pueden usar fuentes de carbono renovables y energía solar como sustratos orgánicos.

Palabras Claves— Biocombustibles, algas, bioenergía, biohidrógeno, combustibles fósiles.

1. INTRODUCCIÓN

La población mundial está creciendo a ritmos acelerados y eso ha provocado un aumento dramático en la demanda global de energía. Actualmente la demanda de energía se cubre con los combustibles fósiles, a través de su combustión se produce energía que se convierte a electricidad liberando a la atmósfera una ingente cantidad de gases de efecto invernadero como el CO₂ o el NO₂, provocando efectos de calentamiento global [1]. Es por ello que muchos investigadores están centrando sus esfuerzos buscando alternativas sostenibles y económicas de energías renovables como son los biocombustibles [2]. Ejemplos de biocombustibles investigados y producidos actualmente son el bioetanol, biodiesel o el biohidrógeno producidos a partir de aceites vegetales y a partir de residuos de desecho.

El biohidrógeno, una de las fuentes de energía del futuro, tiene una serie de ventajas respecto a los combustibles fósiles usados habitualmente: alta eficiencia de conversión, reciclabilidad, naturaleza no contaminante y producción de alta cantidad de energía [3]. Para la producción de hidrógeno se han usado históricamente procesos químicos, pero a parte de ser muy caros, no proporcionan rendimientos muy elevados y son altamente contaminantes. En la última década se ha llevado a cabo su producción por medio de procesos fotosintéticos y fermentativos por algas, cianobacterias y bacterias anaeróbicas y es conocido como biohidrógeno. La producción de biohidrógeno necesita menos energía y puede ser realizada a temperatura y presión ambiente, lo que la hace idónea para la producción a largo plazo [4].

2. BIOCOMBUSTIBLES

Los biocombustibles son productos químicos ricos en energía generados a través de procesos biológicos o derivados de biomasa de organismos vivos, como microalgas, plantas o bacterias. Los combustibles fósiles han sido usados como fuente principal de energía durante mucho tiempo; sin embargo, su uso es insostenible y son causantes de problemas medioambientales debido a su combustión [5].

Los métodos usados para la producción de biocombustibles por medio de microorganismos se basan principalmente en la conversión de energía solar a energía química gracias a la fotosíntesis. La fuente mejor conocida para producir biocombustibles son las plantas o las algas. El uso de organismos fotosintéticos como fuentes de biocombustibles es barata y plausible; por ejemplo, usan el CO₂ atmosférico como fuente de carbono y la luz solar como fuente de energía para su crecimiento y para la producción de biomasa [5,12].

Los biocombustibles se dividen en cuatro categorías o generaciones dependiendo de su origen y de las tecnologías empleadas en su producción: primera, segunda, tercera y cuarta generación.

2.1 BIOCOMBUSTIBLES DE PRIMERA GENERACIÓN

Los biocombustibles de primera generación provienen de fuentes como el almidón, azúcares, grasas animales o aceites vegetales y se producen a partir de fermentaciones, esterificaciones y digestiones [6]. Como ejemplos de biocombustibles de primera generación se encuentran el biodiesel o el biogás.

Las ventajas que presentan son la facilidad de procesamiento, sus bajas o nulas emisiones de gases de efecto invernadero y un balance positivo en dichas emisiones, sin embargo, posee como desventaja principal el desvío de recursos alimenticios a la producción de recursos energéticos, además, de afectar directamente a la seguridad alimentaria [6,10].

2.2. BIOCOMBUSTIBLES DE SEGUNDA GENERACIÓN

Los biocombustibles de segunda generación se aprovechan de la biomasa que no se usa para producir alimentos, principalmente, celulosa. Para la producción de estos combustibles se emplean plantas que crecen específicamente para la producción de energía en áreas marginales y, además, se usan partes no comestibles de cultivos o árboles que pueden ser procesadas eficientemente para producir bioenergía. Como ejemplos de biocombustibles de segunda generación se encuentran el etanol, metanol o biodiesel [6,11].

La ventaja principal en la producción de estos biocombustibles reside en que no existe desviación de los cultivos usados para alimentación para la producción de bioenergía, sin embargo, su desventaja principal reside en una mayor contaminación debido a los procesos más laboriosos de producción en comparación con los de primera generación [8].

2.3. BIOCOMBUSTIBLES DE TERCERA GENERACIÓN

Los biocombustibles de tercera generación son producidos por algas y microalgas. Estas son organismos unicelulares microscópicos que se encuentran en ambientes marinos o de agua dulce. Las microalgas son más eficientes convirtiendo energía solar que las plantas superiores, ya que poseen un acceso más eficiente a agua, CO₂ y a otros nutrientes [7]. Han despertado la atención de los científicos debido a su elevado rendimiento y debido a la sencillez del proceso. En la siguiente tabla (Alam *et al.*, 2015) se muestra el rendimiento de obtención de biocombustibles en comparación con plantas usadas para obtener biocombustibles de primera y segunda generación [7], como se observa, las algas y microalgas son capaces de producir mayor cantidad de biocombustibles que algunas plantas superiores:

TABLA 1
RENDIMIENTOS DE PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES

Sustrato	Litro/Año
Soja	400
Girasol	800
Canola	1,600
Jathropa	2,000
Aceite de palma	6,000
Microalgas	60,000-240,000

Sin embargo, producir biomasa de microalgas es más caro en comparación con producir cultivos de plantas ya que se requiere luz, CO₂, agua, sales inorgánicas y reactores específicos para su crecimiento. Las algas crecen en determinados ecosistemas acuáticos, en agua dulce y salada o, por

ejemplo, en aguas residuales provenientes de la industria [7]. Dentro de los biocombustibles que podemos obtener de algas encontramos el biodiesel, butanol, gasolina, metano, etanol, aceites vegetales o queroseno, y estos poseen unos rendimientos muy elevados [8].

2.4. BIOCOMBUSTIBLES DE CUARTA GENERACIÓN

Los biocombustibles de cuarta generación se aprovechan de la biología sintética de algas y cianobacterias para la producción de bioenergía. La biología sintética abarca el diseño y la construcción de sistemas biológicos modificados genéticamente para darles un uso determinado. A diferencia de los otros tipos de biocombustibles, en este caso, los microorganismos realizan todo el proceso de producción, mientras que en las otras tres generaciones realizan parte del proceso de producción. Los biocombustibles de cuarta generación están basados en materias primas renovables, baratas y ampliamente disponibles [8].

Dentro de las algas modificadas genéticamente se pretende mejorar su eficiencia fotosintética, mejorar la penetración de luz y reducir la fotoinhibición. Además, la ingeniería metabólica de las microalgas puede llevar a un aumento significativo en su contenido de lípidos o carbohidratos, provocando que aumente el rendimiento de producción de biocombustibles [9].

El problema de las algas modificadas genéticamente es el riesgo de liberación deseada o no deseada de cepas transgénicas al medio ambiente. El hecho de que existan legislaciones tan extensas y estrictas sobre organismos modificados genéticamente hace que esta forma de obtención de biocombustibles no sea la más empleada, sobre todo en Europa [9].

3. PRODUCCIÓN DE BIOHIDRÓGENO

La producción de hidrógeno molecular por microorganismos fotosintéticos es una de las aplicaciones más prometedoras a la hora de generar energías renovables. El proceso ocurre a temperatura ambiente y requiere luz solar, agua y una mínima cantidad de macro- y micronutrientes. Es un proceso que no posee emisiones al medioambiente de gases de efecto invernadero y de otros contaminantes ambientales. El biohidrógeno puede ser usado directamente en motores de combustión interna o también pueden ser usados para pilas de combustibles para la producción de electricidad [10].

Sin embargo, esta tecnología posee bajo rendimiento y baja eficiencia. La enzima que cataliza la producción de biohidrógeno es la hidrogenasa, una enzima muy sensible al O₂, un producto liberado en la fotosíntesis, capaz de inhibir la acción de esta enzima. Otra desventaja es que esta producción no puede competir con los precios de la producción de hidrógeno por medio de combustibles fósiles [11].

Pese a ello, se están realizando numerosos esfuerzos para producir hidrógeno por medio de microorganismos ya que se pueden alcanzar eficiencias muy altas y, a medida que se vayan optimizando los métodos, va a competir de forma directa con la obtención de hidrógeno por medio de combustibles fósiles [11].

3.1 PRODUCCIÓN DE H₂ POR FOTOFERMENTACIÓN

Este método se basa en la capacidad de bacterias fotosintéticas anaeróbicas de convertir moléculas orgánicas a biohidrógeno en presencia de luz. Estas reacciones están catalizadas por hidrogenasas de nitrógeno o nitrogenasas, enzimas muy sensibles a la presencia de oxígeno ya que las inactiva. *Rhodobacter*, *Rhodospseudomonas* y *Rhodospirillum* son ejemplos de bacterias no sulfurosas púrpuras usadas en esta ruta de producción de biohidrógeno [14].

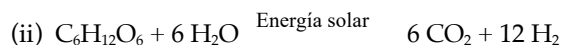
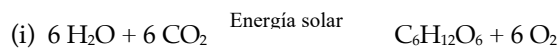
Las bacterias púrpuras no sulfuradas son capaces de capturar la energía solar para producir ATP y electrones, después, a través de un flujo inverso de protones son capaces de reducir la ferredoxina. Entonces, gracias al ATP y a la ferredoxina reducida se lleva a cabo la reducción de protones a hidrógeno por medio de la nitrogenasa [20].

3.2 PRODUCCIÓN DE H₂ MEDIANTE BIOFOTÓLISIS DIRECTA E INDIRECTA

El concepto fundamental de la biofotólisis es usar microorganismos como catalizadores para convertir energía solar y agua a hidrógeno y oxígeno. Esta reacción se lleva a cabo gracias a las hidrogenasas de hierro, a través de las cuales los microorganismos usan protones para producir biohidrógeno [14].

La **biofotólisis directa** es llevada a cabo por algas verdes y por cianobacterias, en un proceso que implica la disociación del agua por la incidencia de energía solar. Los fotosistemas presentes en los cloroplastos de algas verdes pueden absorber energía solar y convertirla en energía redox en forma de protones. Después, las hidrogenasas presentes en el cloroplasto catalizan la reducción de los protones para generar hidrógeno molecular (H₂). Uno de los inconvenientes de esta técnica es la alta sensibilidad de las hidrogenasas al oxígeno generado en la fotosíntesis, provocando una baja conversión lumínica en biohidrógeno. Otra desventaja es la producción de H₂O₂ como subproducto, un compuesto altamente explosivo [15].

La **biofotólisis indirecta** incluye dos fases: la energía solar se convierte en energía química en forma de carbohidratos, que son usados como sustratos en la fermentación anaeróbica (i), después, los carbohidratos son convertidos a biohidrógeno por medio de la acción de hidrogenasas en procesos de fermentación anaeróbica (ii). En este método se evita la sensibilidad de la hidrogenasa al O₂ al separar las reacciones en el tiempo y en el espacio, en dos bioreactores diferentes. En las siguientes reacciones se esquematizan las dos fases de la biofotólisis indirecta [16,17]:



3.3 PRODUCCIÓN POR FERMENTACIÓN OSCURA

El proceso se basa en la habilidad de ciertos microorganismos anaeróbicos o microalgas para generar biohidrógeno en ausencia de luz solar. El mecanismo principal consiste en convertir biomasa orgánica a biohidrógeno a través de procesos de fermentación de ciertos microorganismos. Primeramente, los compuestos orgánicos se hidrolizan para, mediante una acidogénesis, producir ácidos grasos. Estos ácidos grasos serán convertidos a biohidrógeno y acetato por medio de un proceso denominado acetogénesis [18].

La fermentación oscura no requiere luz y produce mucha más energía en comparación con los otros métodos, sin embargo, posee una serie de limitaciones, que se encuentran actualmente en investigación; por ejemplo, una vez obtenido biohidrógeno en la acetogénesis, puede usarse para producir metano y dióxido de carbono en un proceso denominado metanogénesis, algo totalmente indeseado, por ello, se están realizando esfuerzos para tratar de almacenar el H₂ producido para reprimir la metanogénesis [19].

4. PROBLEMAS ACTUALES EN LA PRODUCCIÓN DE BIOHIDRÓGENO

Maximizar la eficiencia de producción de hidrógeno es el mayor reto para las industrias productoras de biohidrógeno. Actualmente, la producción de hidrógeno en el mundo es baja debido a complicaciones en su uso, almacenamiento, distribución, transporte y debido a sus elevados costes de producción. Por ello, es necesario mejorar los procesos de producción para que aumente la cantidad de biohidrógeno producido anualmente [21].

El efecto inhibitorio del oxígeno sobre las hidrogenasas, enzimas clave para producir biohidrógeno, es el mayor problema a la hora de producir este gas por medio de procesos fermentativos. La adición de absorbentes de oxígeno, como la enzima glucosa oxidasa, ha sido usado como solución a este problema y los resultados han sido positivos [22]. A parte de este problema, el bajo rendimiento en la producción de hidrógeno y la necesidad de biorreactores muy caros son los mayores factores limitantes para la producción a larga escala de biohidrógeno por biofotólisis [23]. Sin embargo, las principales limitaciones a la hora de producir biohidrógeno son su purificación y su almacenamiento.

Para su purificación se requieren una serie de pasos que comprenden cambios de temperatura y presión bruscos. Hasta el momento las técnicas de purificación de biohidrógeno son poco efectivas y no aseguran una corriente de hidrógeno totalmente puro [24]. El hidrógeno puede ser almacenado químicamente dentro de soluciones acuosas o sólidas, a través de una compresión y una posterior

licuefacción. Las técnicas usadas para su almacenamiento tienen que ser muy seguras ya que el hidrógeno puede provocar explosiones en su reactor de almacenamiento, debido a que en su producción pueden generarse mezclas de H_2O_2 [24].

5. CONCLUSIONES Y PROYECCIÓN FUTURA

En mi opinión, los biocombustibles son un excelente ejemplo de energía renovable respetuosa con el medio ambiente, se sirven de los organismos vivos y ayudarán a reducir la clara dependencia a los combustibles fósiles a medida que vayan desarrollándose métodos eficientes, más baratos y menos dañinos para su producción. Gracias a la ingeniería genética y a la mejora de los procesos de producción van a ser capaces de plantar cara a los combustibles fósiles, para, en un futuro ser usados ayudando a mitigar los efectos producidos por el cambio climático y reduciendo la emisión de gases de efecto invernadero.

La producción de hidrógeno por medio de procesos biológicos ejemplifica a la perfección un área prometedora en la producción de bioenergía, además, es una alternativa real al uso de los combustibles fósiles, pese a que se encuentre en investigación actual, ya que los métodos de producción no son del todo efectivos, económicos y no son del todo aplicables a gran escala. El método que destaca de los otros dos es el de fermentación oscura, ya que es el método que produce más energía debido a la fermentación de biomasa como azúcares y carbohidratos, sin embargo, posee muchas desventajas que la hacen inviable. Pese a ello, de acorde a la literatura, no se ha desarrollado todavía ningún proceso espaciado que aplique fotofermentación en una fase y fermentación oscura en otra, pudiendo ser este un método más eficiente y con menores limitaciones.

En mi opinión se deben realizar más esfuerzos para la producción de biohidrógeno. Actualmente, la mayoría de los métodos están basados en procesos de fotosíntesis, sin embargo, un método que puede ser muy eficaz de cara al futuro es la aplicación de ingeniería metabólica para la producción de H_2 . Desde mi punto de vista, analizando la literatura actual no se están realizando los suficientes esfuerzos para dirigir determinadas rutas de microorganismos hacia la producción de hidrógeno, por lo que podría ser una perspectiva futura aplicable a la producción de bioenergía.

5. REFERENCIAS

- [1] Hood, E. E. (2016). Plant-based biofuels. In *F1000Research* (Vol. 5). Faculty of 1000 Ltd. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7418.1>
- [2] Lelieveld, J., Klingmüller, K., Pozzer, A., Burnett, R. T., Haines, A., & Ramanathan, V. (2019). Effects of fossil fuel and total anthropogenic emission removal on public health and climate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(15), 7192–7197. <https://doi.org/10.1073/pnas.1819989116>
- [3] Perera KRJ, Ketheesan B, Gadhamshetty V, Nirmalakhandan N. Fermentative biohydrogen production: evaluation of net energy gain. *Int J Hydrog Energy*. 2010;35:12224–12233.
- [4] Sanjay Kumar Gupta, Sheena Kumari, Karen Reddy & Faizal Bux (2013) Trends in biohydrogen production: major challenges and state-of-the-art developments, *Environmental Technology*, 34:13-14, 1653-1670, DOI: 10.1080/09593330.2013.822022
- [5] Abdullah, B., Syed Muhammad, S. A. F. ad, Shokravi, Z., Ismail, S., Kassim, K. A., Mahmood, A. N., & Aziz, M. M. A. (2019). Fourth generation biofuel: A review on risks and mitigation strategies. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 107, pp.37–50). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.02.018>
- [6] Lee, R. A., & Lavoie, J.-M. (2013). From first- to third-generation biofuels: Challenges of producing a commodity from a biomass of increasing complexity. *Animal Frontiers*, 3(2), 6–11. <https://doi.org/10.2527/af.2013-0010>
- [7] Alam, F., Mobin, S., & Chowdhury, H. (2015). Third generation biofuel from Algae. *Procedia Engineering*, 105, 763–768. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2015.05.068>
- [8] Madden, M. C. (2016). A paler shade of green? The toxicology of biodiesel emissions: Recent findings from studies with this alternative fuel. In *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* (Vol. 1860, Issue 12, pp. 2856–2862). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.05.035>
- [9] Moravvej, Z., Makarem, M. A., & Rahimpour, M. R. (2019). The fourth generation of biofuel. In *Second and Third Generation of Feedstocks: The Evolution of Biofuels* (pp. 557–597). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815162-4.00020-3>
- [10] Naik, S. N., Goud, V. v., Rout, P. K., & Dalai, A. K. (2010). Production of first- and second-generation biofuels: A comprehensive review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 14, Issue 2, pp. 578–597). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.003>
- [11] Uthoff, S., Bröker, D., & Steinbüchel, A. (2009). Current state and perspectives of producing biodiesel-like compounds by biotechnology. In *Microbial Biotechnology* (Vol. 2, Issue 5, pp. 551–565). <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00139.x>
- [12] Rodionova, M. v., Poudyal, R. S., Tiwari, I., Voloshin, R. A., Zharmukhamedov, S. K., Nam, H. G., Zayadan, B. K., Bruce, B. D., Hou, H. J. M., & Allakhverdiev, S. I. (2017). Biofuel production: Challenges and opportunities. In *International Journal of Hydrogen Energy* (Vol. 42, Issue 12, pp. 8450–8461). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.11.125>
- [13] Lee, D. J., Show, K. Y., & Su, A. (2011). Dark fermentation on biohydrogen production: Pure culture. *Bioresource Technology*, 102(18),8393–8402. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.03.041>
- [14] Kumar Gupta, S., Kumari, S., Reddy, K., & Bux, F. (2013). Trends in biohydrogen production: Major challenges and state-of-the-art developments. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 34(13–14), 1653–1670. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.822022>
- [15] Tamburic, B., Dechatiwongse, P., Zemichael, F. W., Maitland, G. C., & Hellgardt, K. (2013). Process and reactor design for biophotolytic hydrogen production. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(26), 10783–10794. <https://doi.org/10.1039/c3cp51866c>
- [16] Levin DB, Pitt L, Love M. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *Int J Hydrog Energy*. 2004;29:173–185.
- [17] Alstrum-Acevedo JH, Brennaman MK, Meyer TJ. Chemical approaches to artificial photosynthesis. *Inorg Chem*.

- [18] Zhang, Z. P., Show, K. Y., Tay, J. H., Liang, D. T., Lee, D. J., & Jiang, W. J. (2006). Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community. *Process Biochemistry*, 41(10), 2118–2123. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.05.021>
- [19] Logan, B. E., Oh, S.-E., Kim, I. S., & Van Ginkel, S. (2002). Biological Hydrogen Production Measured
- [20] in Batch Anaerobic Respirometers. *Environmental Science & Technology*, 36(11), 2530–2535. <https://doi.org/10.1021/es015783i>
- [21] Ghimire, A., Frunzo, L., Pirozzi, F., Trably, E., Escudie, R., Lens, P. N. L., & Esposito, G. (2015). A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: Process parameters and use of by-products. In *Applied Energy* (Vol. 144, pp. 73–95). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.01.045>
- [22] Strahan D. The end of the road for hydrogen; 2008. Available from: www.davidstrahan.com/blog/?p=173
- [23] Pandu K, Joseph S. Comparisons and limitations of biohydrogen production processes: a review. *Int J Adv Eng Technol*. 2012;2:342–356
- [24] Sanjay Kumar Gupta , Sheena Kumari , Karen Reddy & Faizal Bux (2013) Trends in biohydrogen production: major challenges and state-of-the-art developments, *Environmental Technology*, 34:13-14, 1653-1670, DOI: 10.1080/09593330.2013.822022
- [25] Kruse O, Rupprecht J, Bader KP, Thomas-Hall S, Schenk PM, Finazzi G. Improved photobiological H₂ production in engineered green algal cells. *J Biol Chem*. 2005;280:34170–34177.



Manuel Garrido Romero, estudiante del máster de Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria de la Universidad Pablo de Olavide.

Endometriosis y el receptor P2X3

Andrés Lara Rodríguez, Manuel Torralba Carnerero, Javier Tovar Luzón.

Resumen— La endometriosis afecta en torno al 10% de la población femenina en edad fértil y es causada por la acumulación de tejido endometrial fuera del útero, generalmente en la zona peritoneal. Esto provoca importantes alteraciones inmunológicas, desencadenando graves síntomas como respuestas de dolor o hiperalgesia, entre otros. El tratamiento clásico para la endometriosis han sido fármacos hormonales, que regulan los niveles estrógenos, pero se desaconseja su uso por sus efectos secundarios. Como alternativa se estudian tratamientos no hormonales que disminuyan los síntomas asociados a la enfermedad. Entre ellos se encuentran los destinados a disminuir el dolor, concretamente moléculas capaces de bloquear la transmisión nerviosa de nociceptores, los cuales se han relacionado con inflamación. El receptor P2X3 es uno de ellos y se encuentra en estudio como posible diana terapéutica para disminuir el dolor asociado a la endometriosis, por medio de antagonistas que bloqueen su acción.

Palabras Claves— Dolor, Endometriosis, Inhibidores, Nociceptores, Receptor P2X3.



1. INTRODUCCIÓN

La endometriosis es una enfermedad debilitante inflamatoria crónica con un importante componente hormonal, siendo una de las proliferaciones ginecológicas benignas más comunes entre la población femenina pre-menopáusia ya que se ha observado que en torno al 10% de las mujeres en edad fértil sufren endometriosis pélvica [1]. Esta enfermedad se debe a la acumulación de tejido endometrial en otras partes del cuerpo diferentes al útero como consecuencia de una mala eliminación del endometrio durante el período menstrual [2].

En condiciones fisiológicas, el endometrio que recubre el útero va aumentando su grosor para preparar la fertilización de un óvulo. En caso de no ser fecundado, el óvulo será eliminado y para ello, la capa de endometrio se rompe y se produce el sangrado que abandonará el cuerpo en condiciones normales. Sin embargo, en endometriosis las células del endometrio se encuentran además en otras partes de la zona pélvica, principalmente en los ovarios, las trompas de Falopio y el tejido que recubre la pelvis. Durante el período menstrual también producen sangrado, aunque este sangrado no podrá abandonar el cuerpo, produciéndose una serie de respuestas inmunes aberrantes en el entorno peritoneal. El crecimiento de células endometriales fuera de su entorno habitual da lugar al reclutamiento de células inmunitarias que producen intensa inflamación caracterizado por un notable aumento de citoquinas proinflamatorias, factores de crecimiento y angiogénesis [3].

Dichas aberraciones inmunológicas desencadenan una serie de síntomas característicos con graves consecuencias psicológicas para la vida social y ocupacional y de la persona afectada. Entre ellos se encuentran: dismenorrea o dolor menstrual, dispareunia o dolor en las relaciones sexuales, sangrado uterino anómalo, infertilidad y otros problemas reproductivos [4].

A pesar de que no se conoce exactamente el trasfondo biológico que causa la endometriosis, el hecho es que se desarrolla en mujeres dentro de la edad reproductiva y cesa tras la menopausia o tras una ovariectomía. Estas observaciones hacen evidente que el crecimiento de tejido endometrial ectópico es dependiente de hormonas esteroideas ováricas [5]

Tradicionalmente los fármacos con los que se ha abordado la endometriosis tienen un fuerte componente hormonal. Ejemplo de ello serían los anticonceptivos estrógeno-progestina o análogos de hormonas liberadoras de gonadotropina (GnRH). La GnRH es una hormona que en condiciones fisiológicas es liberada por el hipotálamo y favorece que la glándula pituitaria secrete FSH y LH, las cuales juegan papeles importantes en el normal transcurso de la menstruación. Con estos agonistas de GnRH se consigue que dicha hormona no llegue a su receptor diana y por consiguiente los niveles hormonales se verán disminuidos [6], [7]. Sin embargo, dado que las hormonas pueden tener más de una diana, la administración de este tipo de fármacos hormonales tiene graves efectos secundarios como la pérdida de masa ósea, así como síntomas hipoestrogénicos derivados de la acción reductora hormonal de estos fármacos. Es por ello que es recomendable la consideración de estos aspectos a la hora de tratar a mujeres jóvenes y adolescentes con agonistas de GnRH debido a que podrían no haber desarrollado su máxima densidad ósea. [6], [8].

Actualmente no existe tratamiento alguno que revierta las alteraciones que se producen en la endometriosis sin producir efectos secundarios indeseables. Es por tanto que las vías de estudio actuales van dirigidas a tratamientos no hormonales como terapias anti-angiogénicas y fármacos inmunomoduladores. Sin embargo, debido a que esas investigaciones se encuentran en etapas tempranas, emerge la necesidad de encontrar un tratamiento que consigan disminuir el dolor causado por los molestos síntomas de esta enfermedad [7].

2. EL DOLOR EN ENDOMETRIOSIS

Partiendo de la base de que el fuerte dolor pélvico es la razón más frecuente por la que las pacientes con endometriosis acuden a consulta, la erradicación del dolor es una importante meta para las investigaciones actuales.

Sin embargo, el dolor que sufren las mujeres con endometriosis es heterogéneo y complejo. La percepción del dolor puede ser de dos tipos dependiendo de la localización de las lesiones en la cavidad pélvica. El dolor somático que resulta de la estimulación de los nervios sensoriales de la piel o de tejidos como el peritoneo parietal. Por su parte, el dolor visceral es aquel que proviene de los órganos internos como el útero, la vejiga o el recto [9].

Además, en función de los mecanismos patofisiológicos que intervengan, el dolor puede ser de tipo neuropático o nociceptivo. El dolor neuropático se define como una condición patológica causada por una lesión en el sistema nervioso somatosensorial, que produce un procesamiento neural alterado. Por otro lado, el dolor nociceptivo es aquel que está causado por un daño en un tejido no neural, produciéndose la activación de neuronas nociceptivas. Además cuando este dolor nociceptivo lleva asociada inflamación, se conoce como dolor inflamatorio [9], [10].

No está claro cuál de los dos es el tipo de dolor predominante en el contexto de la endometriosis. Diversos estudios apuntan a que se debe mayormente al componente neuropático. Dichos estudios se basan en el efecto positivo de la retirada de las lesiones endometrióticas mediante procedimientos quirúrgicos [11]. Sin embargo, no queda claro que en la totalidad de los casos el dolor desaparezca después de dichas cirugías con o que la evidencia científica sugiere que en gran medida, el dolor endometrial se origina debido a inflamación [9].

Se conoce como hiperalgesia al dolor producido como respuesta a un estímulo que normalmente no es doloroso, inducido por la disminución del umbral de señal necesaria para la estimulación del nociceptor [12].

2.1. Inflamación como mediador del dolor en la endometriosis

Son diversos los intermediarios inflamatorios que se han encontrado en mujeres con endometriosis. Entre los que se han encontrado en niveles más elevados en fluido peritoneal y lesiones endometrióticas se encuentran ciertas interleuquinas como IL-1 β [13], factor de necrosis tumoral (TNF- α) [14] y factor de crecimiento nervioso (NGF) [15] entre otros.

De este modo, se crea un ambiente inflamatorio en la zona peritoneal que puede favorecer la estimulación de fibras nerviosas en las lesiones, activándose así los receptores nociceptivos en las neuronas aferentes, desencadenando respuestas de dolor [16].

3. RECEPTORES NOCICEPTORES COMO DIANA TERAPÉUTICA EN ENDOMETRIOSIS

Entre los receptores de las fibras nerviosas sensoriales hay uno que ha sido ampliamente estudiado como se trata del

TRPV1, canal del cual se conoce su relación con la mediación del dolor mediado por inflamación. Así este receptor ha sido muy estudiado en mujeres con endometriosis viéndose como en aquellas con dolor pélvico crónico, su activación en fibras nerviosas es mucho más acentuada que en mujeres con endometriosis sin dolor pélvico crónico [17].

Sin embargo, existe otro receptor como es el P2X3 para el cual no existen tantos estudios sobre su relación con el dolor en endometriosis a pesar de que, como el TRPV1, ambos son regulados por estrógenos [18].

3.1. El receptor P2X3 y su relación con el dolor en la endometriosis

El receptor P2X3 es un subtipo dentro de la familia de receptores P2X, los cuales son canales iónicos se caracterizan por ser activados por la unión de ATP extracelular. Su mecanismo de transducción de señal se basa en la fosforilación proteica seguida de la estimulación del nociceptor y la activación de un segundo mensajero. Cabe destacar que las proteínas que regulan la fosforilación inicial en la sensibilización nociceptiva son las MAP-quinasas (MAPK) [19]. De hecho, se ha estudiado como inhibidores de las MAPK inhiben el crecimiento de células endometriales mediante la disminución de mediadores proinflamatorios [20].

Volviendo al receptor P2X3, un estudio de 2017 de Ding et al. [21] demostraron que este receptor presenta niveles de expresión especialmente altos en lesiones endometrióticas así como en el propio endometrio de mujeres con endometriosis. Además cabría destacar que este hecho se correlaciona con la severidad del dolor (hiperalgesia) en dichas mujeres [21]. Además, se estudió que el dolor causado en endometriosis inducido por los mediadores inflamatorios anteriormente mencionados se transmite gracias a la ruta de señalización ERK, altamente relacionada con la ruta de las MAP-quinasas. Este estudio también demostró que las células endometrióticas estromales que se activan con IL-1 β liberan ATP rápidamente viéndose una mayor expresión y activación de receptores P2X3 en células endometrióticas gracias a la ruta ERK [21]. Por tanto, el receptor P2X3 juega un papel fundamental en la transducción de señal de dolor en endometriosis.

3.2. Tratamientos relacionados con el receptor P2X3

3.2.1. SP600125: Inhibidor de las MAP- kinasas

En un reciente estudio de 2020 realizado por Ding et al. [22] en el que estudiaron la implicación del receptor P2X3 en la endometriosis, se confirmaron hallazgos de estudios anteriores como que las concentraciones de ATP endógeno y la expresión de P2X3 se veían aumentadas en lesiones endometriales, así como la correlación existente con la severidad de hiperalgesia. Sin embargo, realizaron un novedoso hallazgo consistente en que, así como el

ADP estimula la expresión de los niveles de P2X3 ya que el ADP estimula la unión del factor de transcripción ATF3 al promotor de P2X3. Sin embargo, también hallaron que la expresión de este receptor se ve dramáticamente inhibida por el bloqueo de ATF3 con su siRNA y con SP600125 [22].

SP600125 es un potente inhibidor reversible selectivo de c-Jun N-terminal kinase (JNK), un miembro de la familia de las MAP-quinasas [23], piezas clave para la transducción de señal en los receptores P2X3. Para su encapsulamiento y direccionamiento se utilizaron liposomas de CSOSA (chitosan oligosaccharide stearic acid), consiguiéndose unas concentraciones adecuadas del fármaco en las lesiones endometriales. De este modo consiguieron aliviar la hiperalgesia (alta sensibilidad al dolor) asociada a la endometriosis, reducir el tamaño de las lesiones endometrióticas y disminuir la expresión alterada de P2X3 en modelos de rata [22].

3.2.2. A-317491: Antagonista selectivo de P2X3

Una forma de atajar directamente la señal de las fibras sensoriales nerviosas y disminuir la señal de nociceptores es mediante el uso de inhibidores del receptor P2X3. A-317491 es un antagonista selectivo de P2X3, el cual se ha planteado como posible tratamiento para el dolor asociado a la endometriosis, ya que se ha visto que reduce el dolor inflamatorio crónico. Sin embargo presenta ciertas limitaciones como su corta vida media en plasma, pobre biodisponibilidad y mala distribución en tejidos endometrióticos que hacen dudar de su utilidad [24].

Para solventar dicho problema, Yuan et al. [25] estudiaron el encapsulamiento de A-317491 en micelas de CSOSA (chitosan oligosaccharide stearic acid) en modelos endometrióticos de rata, viendo que dichas micelas se acumulaban en las lesiones endometrióticas tras su administración intravenosa. De este modo se consiguió revertir a largo plazo la hiperalgesia característica de la endometriosis.

4. CONCLUSIONES

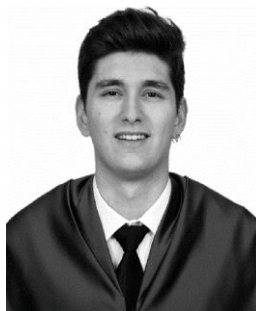
Dado que los principales tratamientos actuales para la endometriosis se basan en tratamientos hormonales, de los cuales bien se conoce sus importantes efectos secundarios, es evidente la necesidad buscar tratamientos no hormonales. Además, ya que uno de los síntomas más notables de la endometriosis es el dolor, el desarrollo de fármacos efectivos que tengan como diana los receptores nociceptores, toma especial importancia. De este modo se conseguiría disminuir el dolor y la inflamación crónicos de esta enfermedad, así como evitar efectos secundarios indeseables como la infertilidad. El desarrollo de fármacos efectivos con tales dianas terapéuticas supondría un importante impulso en la calidad de vida de mujeres con endometriosis, al disminuir notablemente el tan intenso dolor en la zona pélvica que lleva asociado esta enfermedad.

REFERENCIAS

- [1] M. Fukunaga, "Uterus-like mass in the uterine cervix: Superficial cervical endometriosis with florid smooth muscle metaplasia?," *Virchows Arch.*, vol. 438, no. 3, pp. 302-305, 2001.
- [2] C. Mehedintu, M. N. Plotogea, S. Ionescu, and M. Antonovici, "Endometriosis still a challenge," *J. Med. Life*, vol. 7, no. 3, pp. 349-357, 2014.
- [3] L. da G. C. Riccio, P. Santulli, L. Marcellin, M. S. Abrão, F. Batteux, and C. Chapron, "Immunology of endometriosis," *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, vol. 50. Bailliere Tindall Ltd, pp. 39-49, 01-Jul-2018.
- [4] "Endometriosis: Síntomas, diagnóstico y tratamiento. Clínica Universidad de Navarra." [Online]. Available: <https://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/enfermedades/endometriosis>. [Accessed: 15-May-2020].
- [5] M. L. Barcena de Arellano, J. Gericke, U. Reichelt, A. F. Okuducu, A. D. Ebert, V. Chiantera, A. Schneider, and S. Mechsner, "Immunohistochemical characterization of endometriosis-associated smooth muscle cells in human peritoneal endometriotic lesions," *Hum. Reprod.*, vol. 26, no. 10, pp. 2721-2730, Aug. 2011.
- [6] E. Rolla, "Endometriosis: Advances and controversies in classification, pathogenesis, diagnosis, and treatment," *F1000Research*, vol. 8, 2019.
- [7] M. A. Bedaiwy, C. Allaire, P. Yong, and S. Alfaraj, "Medical Management of Endometriosis in Patients with Chronic Pelvic Pain," *Semin. Reprod. Med.*, vol. 35, no. 1, pp. 38-53, Jan. 2017.
- [8] G. A. J. Dunselman, N. Vermeulen, C. Becker, C. Calhaz-Jorge, T. D'Hooghe, B. De Bie, O. Heikinheimo, A. W. Horne, L. Kiesel, A. Nap, A. Prentice, E. Saridogan, D. Soriano, and W. Nelen, "ESHRE guideline: management of women with endometriosis †," *Hum. Reprod.*, vol. 29, no. 3, pp. 400-412, Jan. 2014.
- [9] A. Laux-Biehlmann, T. D'hooghe, and T. M. Zollner, "Menstruation pulls the trigger for inflammation and pain in endometriosis," *Trends in Pharmacological Sciences*, vol. 36, no. 5. Elsevier Ltd, pp. 270-276, 01-May-2015.
- [10] MERSKEY and N, "Classification of chronic pain; Description of chronic pain syndromes and definitions of pain Terms," *Task force Taxon. Int. Assoc. study pain*, pp. 41-43, 1994.
- [11] J. Clarke, "Laparoscopic surgery for pelvic pain associated with endometriosis," *Journal of Pain Management*, vol. 3, no. 3. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 337-339, 2010.
- [12] "Hyperalgesia - an overview | ScienceDirect Topics." [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/hyperalgesia>. [Accessed: 17-May-2020].
- [13] J. Sikora, A. Mielczarek-Palacz, and Z. Kondera-Anasz, "Imbalance in Cytokines from Interleukin-1 Family - Role in Pathogenesis of Endometriosis," *Am. J. Reprod. Immunol.*, vol. 68, no. 2, pp. 138-145, Aug. 2012.
- [14] J. A. Birt, H. Nabli, J. A. Stille, E. A. Windham, S. R. Frazier, and K. L. Sharpe-Timms, "Elevated Peritoneal Fluid TNF- α Incites Ovarian Early Growth Response Factor 1 Expression and Downstream Protease Mediators: A Correlation With Ovulatory Dysfunction in Endometriosis."
- [15] T. Kajitani, T. Maruyama, H. Asada, H. Uchida, H. Oda, S. Uchida, K. Miyazaki, T. Arase, M. Ono, and Y. Yoshimura, "Possible involvement of nerve growth factor in dysmenorrhea

and dyspareunia associated with endometriosis," *Endocr. J.*, vol. 60, no. 10, pp. 1155-1164, 2013.

- [16] H. Kobayashi, Y. Yamada, S. Morioka, E. Niuro, A. Shigemitsu, and F. Ito, "Mechanism of pain generation for endometriosis-associated pelvic pain," *Archives of Gynecology and Obstetrics*, vol. 289, no. 1. Springer Verlag, pp. 13-21, 12-Oct-2014.
- [17] M. G. Rocha, J. C. R. e Silva, A. Ribeiro da Silva, F. J. Candido Dos Reis, A. A. Nogueira, and O. B. Poli-Neto, "TRPV1 Expression on Peritoneal Endometriosis Foci is Associated With Chronic Pelvic Pain," *Reprod. Sci.*, vol. 18, no. 6, pp. 511-515, Jun. 2011.
- [18] E. Greaves, K. Grieve, A. W. Horne, and P. T. K. Saunders, "Elevated Peritoneal Expression and Estrogen Regulation of Nociceptive Ion Channels in Endometriosis," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 99, no. 9, pp. E1738-E1743, Sep. 2014.
- [19] R. M. Edelmayer, J. D. Brederson, M. F. Jarvis, and R. S. Bitner, "Biochemical and pharmacological assessment of MAP-kinase signaling along pain pathways in experimental rodent models: A potential tool for the discovery of novel antinociceptive therapeutics," *Biochemical Pharmacology*, vol. 87, no. 3. Elsevier Inc., pp. 390-398, 01-Feb-2014.
- [20] B. D. Mckinnon, V. Kocbek, K. Nirgianakis, N. A. Bersinger, and M. D. Mueller, "Kinase signalling pathways in endometriosis: potential targets for non-hormonal therapeutics."
- [21] S. Ding, L. Zhu, Y. Tian, T. Zhu, X. Huang, and X. Zhang, "P2X3 receptor involvement in endometriosis pain via ERK signaling pathway," *PLoS One*, vol. 12, no. 9, pp. 1-17, 2017.
- [22] S. Ding, Q. Yu, J. Wang, L. Zhu, T. Li, X. Guo, and X. Zhang, "Activation of ATF3/AP-1 signaling pathway is required for P2X3-induced endometriosis pain," *Hum. Reprod.*, Apr. 2020.
- [23] B. L. Bennett, D. T. Sasaki, B. W. Murray, E. C. O'Leary, S. T. Sakata, W. Xu, J. C. Leisten, A. Motiwala, S. Pierce, Y. Satoh, S. S. Bhagwat, A. M. Manning, and D. W. Anderson, "SP600125, an anthrapyrazolone inhibitor of Jun N-terminal kinase," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 98, no. 24, pp. 13681-13686, Nov. 2001.
- [24] L. D. Cantin, M. Bayrakdarian, C. Buon, E. Grazzini, Y. J. Hu, J. Labrecque, C. Leung, X. Luo, G. Martino, M. Paré, K. Payza, N. Popovic, D. Projean, V. Santhakumar, C. Walpole, X. H. Yu, and M. J. Tomaszewski, "Discovery of P2X3 selective antagonists for the treatment of chronic pain," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 22, no. 7, pp. 2565-2571, Apr. 2012.
- [25] M. Yuan, S. Ding, T. Meng, B. Lu, S. Shao, X. Zhang, H. Yuan, and F. Hu, "Effect of A-317491 delivered by glycolipid-like polymer micelles on endometriosis pain," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 12, pp. 8171-8183, 2017.



Andrés Lara Rodríguez recibió el título de graduado en Bioquímica por la Universidad de Sevilla en 2019. Actualmente es estudiante del máster de Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo Olavide.



Manuel Torralba Carnerero recibió el título de graduado en Biotecnología por la Universidad Pablo de Olavide en 2019. Actualmente es estudiante del máster de Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo Olavide.



Javier Tovar Luzón recibió el título de graduado en Biología por la Universidad de Granada en 2019. Actualmente es estudiante del máster de Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo Olavide.

Enfermedad de Andrade. Nuevas estrategias para su tratamiento

Ana Batanero Mantero, Isaías Corrales Vidal

Resumen— La polineuropatía amiloidótica familiar por transtiretina (PAF tipo I), también conocida como enfermedad de Corino Andrade o enfermedad de Andrade, es una enfermedad rara que afecta mundialmente a unas 10.000 personas. Se trata de una amiloidosis hereditaria autosómica dominante, resultado de una mutación del gen TTR que codifica para la transtiretina. Trae como consecuencia el depósito extracelular de amiloide y la destrucción del sistema nervioso periférico, conllevando a falta de autonomía e incluso la muerte. Hasta hace poco, el único tratamiento posible era el trasplante hepático dominó, pero en los últimos años, han aparecido numerosas estrategias farmacológicas. Llama la atención Onpatro, cuyo principio activo es patisirán. Es el primer fármaco de ARN de interferencia (ARNi) comercializado por la Agencia de Medicamentos y Alimentación de EE.UU. (FDA) e incluido dentro del Sistema Nacional de Salud de España desde el pasado 3 de abril de 2020.

Palabras Claves— Amiloidosis, Andrade, ARNi, Onpatro, Transtiretina.

1. INTRODUCCIÓN

La polineuropatía amiloidótica familiar por transtiretina (PAF tipo I) o enfermedad de Andrade es una enfermedad rara. Su origen se remonta a la Edad Media, en el año 1500 y en el norte de Portugal. Era conocida como “mal de pies” pues muchos pescadores de la zona arrastraban los pies, lo que se denominó “estepach”. Posteriormente, no eran capaces de andar y fallecían. Al paso de los años, en 1952, el doctor portugués Corino Andrade describió esta enfermedad y pasó a denominarse Polineuropatía Amiloidótica Familiar tipo I [1], [2].

Si nos centramos en España, son dos los focos principales de la enfermedad: Mallorca y Valverde del Camino (Huelva). Mallorca constituye el quinto foco endémico a nivel mundial, solo superado por Portugal, Japón, Suecia y Brasil. Con respecto a Valverde del Camino, con una población de 12.820 habitantes, existen más de 50 afectados diagnosticados [2], [3].

2. GENERALIDADES DE LA ENFERMEDAD

2.1. Bases genéticas y fisiopatología de la enfermedad

La enfermedad es originada por una alteración de la proteína transtiretina, codificada por el gen TTR. Inicialmente conocida como prealbúmina, es una proteína transportadora de tiroxina y de unión a retinol asociada a vitamina A. Se sintetiza en el hígado (98% de la producción), los plexos coroideos del cerebro y el epitelio pigmentario ciliar y retinario del ojo. Está presente en el suero y en el líquido cefalorraquídeo de humanos y es una proteína tetramérica con cuatro subunidades idénticas y un peso molecular total de 55 kDa [1], [2], [4].

El gen TTR se localiza en el brazo largo del cromosoma 18 (18q12.1) y está formado por cuatro exones. Se han identificado más de 130 mutaciones en este gen, la mayo-

ría patogénicas. La más común es una mutación puntual consistente en la sustitución de un aminoácido valina por un aminoácido metionina en la posición 30 de la proteína madura (ATTR-Val30Met) [1], [2], [5].

La enfermedad sigue una herencia autosómica dominante, aunque pueden aparecer casos esporádicos y mutaciones de novo. Además, su penetrancia es variable. Se considera que es del 100% en zonas endémicas y en familias en las que hay varias generaciones afectadas. Fuera de estas regiones, la penetrancia es incompleta y, como regla general, aumenta con la edad hasta los 90 años, cuando la penetrancia alcanza el 100%. Por otro lado, muchos individuos son portadores de la mutación sin llegar a desarrollar la enfermedad o sin padecerla temporalmente, transmitiendo la alteración a la descendencia sin saberlo [1], [2], [5].

En cualquier caso, la mutación trae consigo una desestabilización de los homotetrámeros que se disocian en monómeros los cuales sufren un plegamiento incorrecto dando oligómeros que se agregan formando fibrillas de amiloide (Figura 1). Estas, se acumulan en los espacios extracelulares conllevando a la disfunción de órganos sistémicos y mostrando efectos tóxicos en los tejidos vecinos. Es importante la rotura de la barrera hematoneural, permitiendo el acceso de monómeros y oligómeros de transtiretina al espacio endoneural del sistema nervioso periférico (SNP) donde se formarán las fibrillas de amiloide [1].

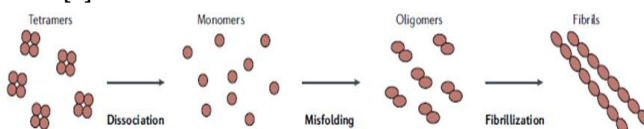


Fig. 1. Disociación de homotetrámeros de la transtiretina [1].

No obstante, también existen evidencias que apoyan que la amiloidosis puede ser por escisión proteolítica de transtiretina, de modo que los fragmentos carboxitermi-

nales generados, promueven la formación de fibrillas de amiloide patogénicas [1], [5].

Independientemente del origen fisiopatológico, estas fibrillas de amiloide comienzan a depositarse en torno a los 30 años, mientras que el individuo es asintomático, y es a partir de los 40 años, aproximadamente, cuando los depósitos de amiloide alcanzan unos niveles abundantes y aparecen los primeros síntomas. No obstante, hay casos en los que los síntomas aparecen antes o de manera más tardía [1], [2], [6].

2.2. Sintomatología y diagnóstico

La sintomatología de la enfermedad es muy heterogénea y, además, depende del genotipo y origen geográfico de la enfermedad. Centrándonos en la variante más común en España y Portugal (ATTR-Val30Met), en la enfermedad de aparición temprana se distinguen tres estadios. En el estadio 1, aparece una polineuropatía sensorial progresiva caracterizada por dificultad al andar sin asistencia; en el estadio 2, aparece una polineuropatía sensoriomotora en la que el individuo necesita asistencia para andar y presenta debilidad de los músculos de las manos; en el estadio 3, el paciente acaba en silla de ruedas o encamado y muere tras 10 o 12 años desde el inicio de la enfermedad. Por otro lado, están los individuos con mutación Val30Met de aparición tardía o con amiloidosis asociadas a otras mutaciones, en los que todos los procesos ocurren de forma más rápida [1], [2], [4], [6], [7].

La sintomatología inicial por defectos en el sistema nervioso periférico suele manifestarse con parestesia, que comienza en las extremidades inferiores con hormigueos, entumecimiento, pérdida de fuerza y sensibilidad y pérdida de sudoración, con evolución ascendente. A parte del sistema nervioso periférico, también son varios los órganos afectados como consecuencia del depósito de amiloide, como son el sistema digestivo, el páncreas, el corazón, los riñones, el sistema visual o el aparato reproductor masculino. En cuanto al diagnóstico, en áreas endémicas, suele tardar un año mientras que en zonas donde la enfermedad no es característica puede retrasarse tres o cuatro años. Además, es muy importante el diagnóstico diferencial con otras patologías [1], [2], [7].

3. TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD

Para hacer frente a la enfermedad hay distintas estrategias.

3.1. Trasplante hepático

El hígado es el principal sitio de síntesis de transtiretina por lo que uno de los tratamientos más eficaces es el trasplante hepático. Para que sea efectivo debe realizarse en las primeras etapas de la enfermedad, pues en pacientes con enfermedad avanzada existe una morbilidad importante o la calidad de vida postrasplante no es óptima [1], [2].

Se conoce como trasplante hepático dominó o secuencial y fue propuesto en 1992 por Miguel Munar-Qués y Pascual Parrilla. El enfermo de Andrade recibe el hígado de un donante cadáver, pero su hígado puede ser aprovechado ya que es morfológica y funcionalmente normal,

aunque con producción de transtiretina defectuosa. Los receptores suelen ser enfermos crónicos de edad avanzada, en los que la aparición tardía de los síntomas de la enfermedad no afectaría a su calidad de vida [2], [8], [9].

3.2. Tratamiento farmacológico

Hay enfermos tratados en lugar de con trasplante. Además, a pesar de la eficacia del trasplante hepático, es posible que reaparezca la sintomatología de la enfermedad. A continuación, se detallan los principales tratamientos para la enfermedad [1], [10].

Estabilizadores de los tetrámeros de transtiretina

Son moléculas pequeñas cuyo mecanismo de acción se basa en un principio conocido como “estabilización cinética del estado nativo”. Estas moléculas son capaces de unirse a los sitios de tiroxina. Así, se estabiliza la estructura tetramérica evitando la disociación en monómeros y la posterior formación de fibrillas. Actualmente, se conocen dos: diflunisal y tafamidis, este último aprobado por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y la Agencia de Medicamentos y Alimentación de EE.UU. (FDA) [1], [10].

Oligonucleótidos antisentido terapéuticos

Se trata de moléculas de una hebra de ADN de 13 a 25 nucleótidos. Dentro de este grupo destaca el inotersen, aprobado por la EMA y la FDA. Es un oligonucleótido de segunda generación de administración subcutánea, formado por 20 nucleótidos cuyos 10 nucleótidos centrales poseen actividad ARNasa [10].

Doxiciclina y ácido tauroursodeoxicólico

La doxiciclina es un derivado de tetraciclina, antibiótico que posee propiedades anti-amiloidogénicas, mientras que el ácido tauroursodeoxicólico es un ácido biliar con efectos positivos sobre la reducción de las fibrillas preliminares y no preliminares de amiloide. No están aprobados, pero parecen ser una combinación oral prometedora para la destrucción y reabsorción de los depósitos de transtiretina [10].

Anticuerpos monoclonales

Son la última incorporación a los tratamientos. Se distinguen dos grupos de anticuerpos monoclonales que se diferencian en su diana. Son los anti-TTR, dirigidos a la superficie de la transtiretina amiloidogénica y entre los que está el anticuerpo T24; y los anti-SAP (anti-componente amiloide P del suero), destacando el Dezamizumab [1], [10].

Pequeñas moléculas de ARN interferente (ARNsi)

Son similares a los oligonucleótidos antisentido de una sola cadena, con la diferencia de que el ARN de interferencia (ARNi) posee dos hebras de ARN. En el ARNsi la hebra antisentido es la farmacológicamente activa mientras que la otra sirve como vehículo para llegar hasta el citoplasma y proteger a la hebra antisentido de la degradación. Los ARNsi, por su condición hidrofílica, tienen dificultad para atravesar las membranas lipídicas. Para

ello, se introducen en nanopartículas o lípidos catiónicos o se modifican químicamente para que interactúen con los receptores de membrana con alta afinidad y así llegar hasta los hepatocitos, principalmente. Una vez que llegan al citoplasma, la molécula de ARNsi se une a un complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC). Este complejo RISC se asocia con una proteína de la familia argonauta, Ago2, con capacidad para escindir. Por ello, los dúplex de ARNsi se separan. La hebra más estable ($3' \rightarrow 5'$) es entonces integrada al complejo RISC activo formándose un complejo de silenciamiento donde la hebra antisentido se hibrida con el ARN mensajero del gen diana (en este caso TTR) induciéndose su escisión y degradación por Ago2 (Figura 2) [1], [10], [11].

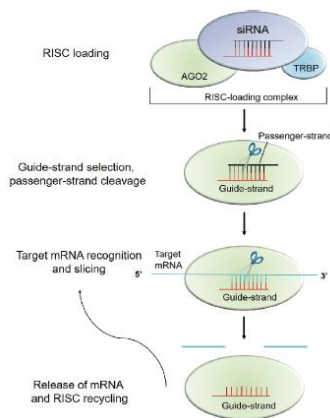


Fig. 2. Mecanismo de silenciamiento del ARNsi [11].

Dentro de este grupo se incluye el fármaco Onpattro cuyo principio activo es el patisirán, formado por dos hebras de 21 nucleótidos cada una. Es introducido en nanopartículas de componente multilipídico de 100 nm que consisten en partículas estables de ácidos nucleicos y lípidos (SNALPs). Su objetivo es evitar la desestabilización de los tetrámeros (Figura 3). Se administra por vía intravenosa cada 21 días. Antes de ello, el paciente necesita una premedicación para reducir los riesgos relacionados con la infusión. Entre estos fármacos se encuentran dexametasona, paracetamol/acetaminofén oral, un bloqueante de H2 y un bloqueante de H1. Además, se recomienda una suplementación con vitamina A [6], [10], [11].

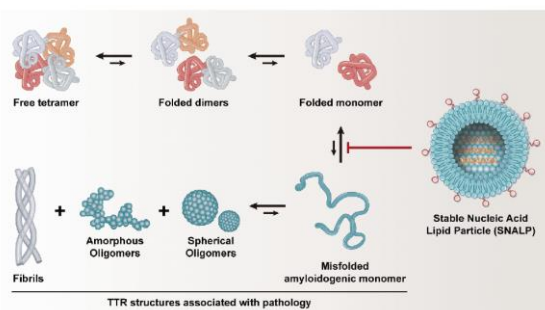


Fig. 3. Representación de la nanopartícula de componente multilipídico (SNALP) que encapsula al ARNsi para silenciar al gen TTR mutado. Su acción evita la desestabilización de los homotetrámeros [11].

En diversos estudios, esta formulación de ARNsi en nanopartículas lipídicas ha mostrado una reducción significativa tanto de las formas mutantes como no mutantes de transtiretina en pacientes con amiloidosis hereditaria por transtiretina y en voluntarios sanos. Tanto es así que los enfermos tratados mostraron una mejora de la función nerviosa y de su calidad de vida, comparado con aquellos que recibieron placebo. Se vió una reducción de síntomas de neuropatía (entumecimiento, hormigueo, dolor, debilidad) y una mejora de la salud digestiva, capacidad para realizar actividades cotidianas de índole motora, así como una función y biomarcadores cardíacos mejorados [12], [13].

El principio activo patisirán probablemente sea el mayor éxito con respecto a otros fármacos basados en ARNsi. Fue aprobado por la FDA el 10 de agosto de 2018, siendo el primer tratamiento basado en ARNi para hacer frente a una enfermedad. Además, en España, desde el 3 de abril de 2020 este medicamento forma parte del Sistema Nacional de Salud, permitiendo que los pacientes con esta patología puedan acceder al tratamiento sin ningún tipo de impedimento económico [11], [14].

4. CONCLUSIONES

Queda palpable la necesidad de progreso e inversión en investigación de enfermedades raras como la que aquí se expone, resultando de vital importancia, seguir brindando el apoyo social y científico necesario a las asociaciones de pacientes.

En lo referente a la enfermedad de Andrade, a parte de todos estos tratamientos mencionados, no cesan los estudios. Deben seguir investigándose nuevas terapias como estrategias de terapia génica o terapias personalizadas que puedan ser eficaces en pacientes presintomáticos o en el momento de aparición de los primeros síntomas.

Así mismo, el completo desarrollo y la reciente aprobación de Onpattro pone de manifiesto la capacidad del ARNsi para apuntar y silenciar prácticamente cualquier gen de interés, lo cual proporciona nuevas herramientas poderosas para la investigación biomédica y el hallazgo de nuevos fármacos. Sobre todo, para aquellas dianas que se consideraban casi intratables, como, por ejemplo, el caso de oncogenes y otras enfermedades cuyo origen radica en una función génica alterada.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la Asociación Valverdeña de la Enfermedad de Andrade. En especial, a la colaboración de cuatro de sus miembros, María José Bermejo Bermejo, Emilio Domínguez Márquez, Carlos Arrayás Oso e Inés Fernández Osorno.

REFERENCIAS

- [1] Adams D, Koike H, Slama M, Coelho T, "Hereditary transthyretin amyloidosis: a model of medical progress for a fatal disease," *Nat Rev Neurol.*, vol. 15, no. 7, pp.387-404, Jun 2019, doi: 10.1038/s41582-019-0210-4.

- [2] Web de ASVEA. Asociación Valverdeña de la Enfermedad de Andradade. <https://www.enfermedadandradevalverde.com/>
- [3] Web de ABEA. Asociación Balear de la Enfermedad de Andradade. <http://andradebaleares.es/>
- [4] MJL Rubiano, AC Méndez, JA del Castillo, "Análisis descriptivo de diversos aspectos podológicos en pacientes con polineuropatía amiloidótica familiar: serie de casos," *Rev Esp podol.*, vol. 28, no.2, pp.73-81, Jul/Dec 2017, doi: 10.1016/j.repod.2017.05.001.
- [5] N Andrés, JJ Poza, JFM Massó, "Polineuropatía amiloidótica familiar I por mutación Val50Met (Val30Met) en el gen de la transtiretina. *Neurología*, vol. 33, no. 9, pp. 583-589, Nov/Dec 2018, doi: 10.1016/j.nrl.2016.07.009.
- [6] María José Bermejo Bermejo, Emilio Domínguez Márquez, Carlos Arrayás Oso e Inés Fernández Osorno. Miembros de ASVEA, 2020.
- [7] Web de Orphanet. Amiloidosis ATTRV30M. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=ES&Expert=85447
- [8] L Lladó, J Fabregat, C Baliellas, "Trasplante hepático secuencial y polineuropatía amiloidótica familiar. *GH CONTINUADA*, vol. 10, n.º. 3, May/Jun 2011.
- [9] Web de Youtube. España Directo Cadena de trasplantes Espaa Directo RTVEes A la Carta. <https://www.youtube.com/watch?v=OREgesvVsZQ&t=24s>
- [10] Müller ML, Butler J, Heidecker B, "Emerging therapies in transthyretin amyloidosis - a new wave of hope after years of stagnancy?," *Eur J Heart Fail*, vol. 22 n.º.1, pp. 39-53, Jan 2020, doi: 10.1002/ejhf.1695.
- [11] Saw PE, Song EW, "siRNA therapeutics: a clinical reality," *Sci China Life Sci.*, vol. 63 n.º 4, pp. 485-500, Apr 2020, doi: 10.1007/s11427-018-9438-y.
- [12] Web de UpToDate. Overview of amyloidosis. <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-amyloidosis>
- [13] Web de Onpattro. <https://www.onpattro.com/>
- [14] Web de farmanews. Nota de prensa. Disponible en España Onpattro ® el primer fármaco basado en RNAi para el tratamiento de la amiloidosis hereditaria por transtiretina. https://www.farmanews.com/Notasprensa/14911/Disponible_en_Espana_Onpattro_el_primer_farmaco_basado_en_RN



Ana Batanero Mantero. Natural de Valverde del Camino (Huelva). Graduada en Biomedicina Básica y Experimental por la Universidad de Sevilla (2015-2019). Actualmente, cursando el primer curso del Máster en Biotecnología Sanitaria en el itinerario Nuevos Fármacos de la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla).



Isaías Corrales Vidal. Natural de Vejer de la Frontera (Cádiz). Graduado en Biología por la Universidad de Sevilla. Actualmente, cursando el primer curso del Máster en Biotecnología Sanitaria en el itinerario Nuevos Fármacos de la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla).

Leucemia mieloide aguda: células T-CAR como tratamiento

Begoña Pérez-Rojo

Resumen — La leucemia mieloide aguda (LMA) es una neoplasia agresiva en la cual se produce un crecimiento descontrolado de células hematopoyéticas anormales y poco diferenciadas. Actualmente, los tratamientos existentes y convencionales presentan poca efectividad, por lo que existe una creciente necesidad de nuevas terapias efectivas. El papel que juega el sistema inmune es fundamental para entender el desarrollo y progresión de la LMA, de hecho, la inmunoterapia se está abriendo paso como tratamiento futuro y personalizado para este tipo de pacientes. Las células T-CAR son un tipo de inmunoterapia que ha mostrado efectos positivos en pacientes con leucemia linfocítica crónica (LLC) y con linfoma de hodgkin (LH), sin embargo, su eficacia en LMA aún es cuestionada. Este artículo intentará describir y abordar las perspectivas más importantes de este tratamiento orientado a LMA.

Palabras Claves — Células T-CAR, Diana Terapéutica, Inmunoterapia, Leucemia Mieloide Aguda (LMA), Tratamiento

1. INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloide aguda (LMA) es una neoplasia hematológica caracterizada por una proliferación descontrolada y una pérdida en la capacidad de diferenciación de blastos de estirpe mieloide en médula ósea y tejidos periféricos [1]. Esto da lugar a una serie de trastornos hematológicos malignos de rápida progresión y gran heterogeneidad fenotípica y genotípica [2]. Los procesos neoplásicos de origen hematopoyético se asocian con una serie de alteraciones genéticas donde se ve afectada la vía de maduración de la célula progenitora y su dependencia a factores de crecimiento. Esto hace que, en última instancia, tenga lugar una expansión clonal descontrolada y una perturbación en los procesos de apoptosis y diferenciación hematopoyética. Todos estos acontecimientos dan lugar a la leucemiosis o transformación leucémica, donde las células germinativas hematopoyéticas (CGH) terminan transformándose en células madre leucémicas [3].

Según el estudio de Lübbert y Deschler (2006) [4], la LMA es la leucemia mieloide más común, correspondiendo al 80% de las leucemias agudas en adultos y al 15-20% en niños. Presenta una prevalencia de entre 3 a 8 casos por cada 100.000 habitantes, aunque la mayor incidencia se encuentra a partir de los 60 años, con un valor máximo de aproximadamente 25 casos por 100.000 habitantes entre los 80 y 84 años. La mayoría de casos de LMA surgen *de novo* y se caracterizan por carecer de historial clínico relacionado con trastornos hematológicos o de exposición a terapias o agentes potencialmente leucémicos. La LMA generalmente se asocia con una serie de factores de riesgo como la edad, antecedentes previos de enfermedades hematológicas, desórdenes genéticos o exposición a radiaciones y/o sustancias químicas. Sin embargo, también puede desarrollarse como progresión de otro trastorno clonal de las CGH, como neoplasias mieloproliferativas (NMP) y síndromes mielodisplásicos (SMD) [4].

2. HETEROGENEIDAD GENÉTICA EN LMA

Las más de 700 translocaciones cromosómicas encontradas hasta ahora, evidencian que la LMA es una enfermedad genéticamente heterogénea. Sin embargo, su carga mutacional (mutaciones somáticas por megabase) es baja, encontrándose aproximadamente una media de solo 13 mutaciones en pacientes con LMA *de novo*. Las mutaciones génicas más comunes incluyen a FLT3, RAS y c-KIT, y suelen inducir un incremento en la proliferación de células mieloides como consecuencia de la activación de rutas de transducción de señales. Sin embargo, también son comunes las mutaciones cromosómicas, que pueden bloquear la diferenciación de células mieloides debido a una actividad aberrante de ciertos factores de transcripción. Entre estas mutaciones se encuentran, por ejemplo, translocaciones cromosómicas como t(8;21)(q22;q22): RUNX1-RUNX1T1 y t(15;17)(q22;q12): PML-RAR α [5].

3. INMUNOTERAPIA

La LMA es una enfermedad con gran complejidad a la hora de establecer un tratamiento generalista. Sin embargo, a pesar de que la estrategia terapéutica más común es la quimioterapia, sólo entre el 40-45% de jóvenes y entre el 10-20% de adultos se curan con este tratamiento. Estos resultados insatisfactorios focalizan la atención en nuevos tipos de terapias, entre ellos la inmunoterapia. Adicionalmente, la gran heterogeneidad de anomalías genéticas presentes en la LMA impulsan una serie de respuestas inmunitarias anti-leucémicas diferenciales, lo que hace de este tipo de terapia un tratamiento personalizado al paciente y con más efectividad. El primer punto de partida consiste en detectar y superar todos los mecanismos inmunosupresores que presentan las células de LMA. Existen diferentes tipos de inmunoterapias planteadas para este tipo de cáncer, entre ellas se encuentra la inmunoterapia orientada al antígeno y dentro de esta, la terapia con células T-CAR [5].

3.1. Terapia con células T-CAR

Los receptores de antígeno quimérico o CARs (de sus siglas en inglés “Chimeric Antigen Receptor”) se caracterizan por ser receptores recombinantes diseñados genéticamente para ser capaces de redirigir la función de linfocitos T y de otras células inmunes. Para ello, incorporan la especificidad antigénica del fragmento variable de un anticuerpo de cadena simple, con los dominios de señalización transmembrana e intracelular de la cadena CD3 ζ y moléculas coestimuladoras [7]. Los receptores CAR presentan tres dominios diferentes: (i) un dominio de unión específico al antígeno extracelular, que se deriva del fragmento variable de cadena única de un anticuerpo (scFv), (ii) una bisagra y un segmento transmembrana generalmente derivado de CD8 α o dominio IgG, y (iii) un dominio de señalización intracelular de células T [8]. El dominio extracelular de la construcción CAR transgénica reconoce un objetivo predefinido en las células leucémicas y/o tumorales respectivas. Tras unirse a dicho objetivo, la construcción quimérica, que contiene dominios de señalización coestimuladores intracelulares, activa a la célula T-CAR, resultando en la muerte de la célula tumoral y estimulando, a su vez, células inmunes en el microambiente tumoral adyacente [13]. Hasta el momento, existen tres generaciones de receptores CARs (Figura 1). La segunda generación permitió la mejora de las señales de coestimulación al dominio intracelular, mientras que la tercera generación mejoró la supervivencia de las células T-CAR [8].

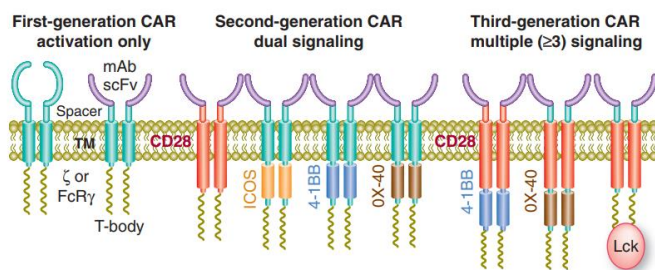


Fig. 1. Las tres generaciones de CARs [7].

Cuando se produce una recaída después de la terapia con anticuerpos o células T-CAR, las células tumorales pierden a menudo el antígeno diana. Este problema es abordado por células T-CAR dirigidas a múltiples antígenos, bien mediante la administración simultánea de varios CAR monoespecíficos o bien mediante células T-CAR bispecíficas para dos dianas diferentes [8].

4. ANTÍGENOS CANDIDATOS PARA LA TERAPIA CON CÉLULAS T-CAR.

En el caso de LMA, identificar la diana más óptima sigue siendo un gran desafío. Estas dianas deben presentar ausencia de expresión superpuesta en tejidos normales, así como una baja expresión en células madre hematopoyéticas, con el fin de minimizar la toxicidad sistémica fuera del tumor. Además, deben expresarse en todas las células tumorales para superar la heterogeneidad clonal y pre-

sentar coexpresión en células tumorales con el fin de evitar el escape del antígeno, que junto con la pérdida de células T-CAR y el desarrollo de autoanticuerpos, son los mecanismos más comunes que conducen al fracaso de esta terapia [8]. Existen una serie de antígenos que se consideran potenciales candidatos para la terapia con células T-CAR, los cuales se recogen en la Figura 2. De entre ellos, se pondrán los más prometedores.

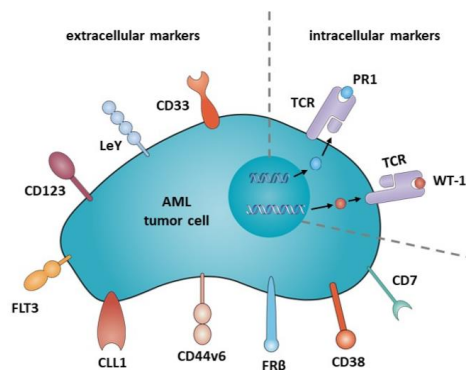


Fig. 2. Posibles dianas para la terapia T-CAR en LMA [8].

4.1. CD33

CD33 es un receptor de membrana expresado en células mieloides. El 90% de los blastos leucémicos expresan CD33, aunque también lo hacen las células madre mieloides y las mieloides sanas. Desde el desarrollo del Gemtuzumab (Mylotarg®, Pfizer, Alemania), un anticuerpo humanizado anti-CD33 conjugado con drogas, CD33 ha sido considerado un objetivo atractivo para la inmunoterapia [9]. Kim *et al.* (2018) [14] intentaron resolver el problema de mielotoxicidad mediante la eliminación por CRISPR/Cas9 de CD33 en células madre hematopoyéticas normales, haciendo que estas fueran resistentes a la terapia T-CAR dirigida a CD33. Además, estudios con macacos Rhesus demostraron que la terapia con células T-CAR anti-CD33 transfundidas después de un trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas (HSPC), fue eficaz a la hora de eliminar las células leucémicas sin ningún signo de mielotoxicidad [9].

4.2. CD123

CD123 corresponde con la cadena transmembrana α del receptor de IL-3 (interleucina 3). A pesar de que se considera una diana adecuada, exhibe problemas de mielotoxicidad [10]. El 70% de células de LMA expresan tanto CD33 como CD123 y solo el 10% expresan CD123 sin CD33 concomitante en su superficie, esto convierte a CD33 junto con CD123 en objetivos interesantes para la terapia T-CAR en LMA. [13].

4.3. FLT3 (CD135)

FLT3 (tirosina quinasa 3 similar a Fms) también conocido como CD135, es un receptor de citocinas perteneciente a los receptores de tirosina quinasa de clase III. FLT3 se expresa aproximadamente en el 20% de los pacientes con LMA y se caracteriza por presentar duplicaciones en tándem internas (FLT3-ITD) [13]. Varios estudios han de-

mostrado que anti-FLT3 presenta una toxicidad más baja que otras dianas similares. Además, muestra una supervivencia significativamente prolongada en ratones portadores de leucemia FLT3, después de que estos recibieran tratamiento con células T-CAR anti-FLT3 [8]. En esta terapia, la administración concomitante de Crenolanib conduce a un aumento de la expresión superficial de FLT3 y como consecuencia de ello, las células T-CAR dirigidas a FLT3 reconocen de forma más efectiva a las células leucémicas, tanto *in vitro* como *in vivo*. Sin embargo, el efecto mieloablativo sobre las células hematopoyéticas sanas parece requerir de un posterior trasplante alogénico para reconstituir el sistema hematopoyético, lo cual subraya nuevamente el problema actual de selectividad limitada en las estrategias T-CAR descritas sobre LMA [13].

4.4. Receptor de folato β (FR β)

FR β se expresa principalmente en células hematopoyéticas de linaje mielóide y en el 70% de las células de LMA primarias. Varios modelos preclínicos han demostrado la eficacia de las células T-CAR anti-FR β tanto *in vitro* como *in vivo* sin toxicidad aparente contra las células madre hematopoyéticas sanas [8].

4.5. PR1/HLA-A2 y WT1/HLA-A2

Buena parte de los antígenos y neoantígenos asociados a leucemia se procesan intracelularmente y son presentados por el HLA (sistema del antígeno leucocitario humano) de clase II. Partiendo de esta premisa, se desarrollaron receptores CAR miméticos de células T (TCRm) que dirigían su dominio scFv contra un complejo péptido-HLA. Uno de ellos fue la proteinasa 1 (PR1), un nonámero restringido a HLA-A2 derivado de la proteinasa 3, la cual es un antígeno asociado a leucemia que se sobreexpresa en blastos leucémicos mieloides. Se llevó a cabo una construcción CAR de segunda generación dirigida a HLA-A2/PR1, la cual exhibía citotoxicidad contra líneas celulares de LMA humana y blastos de LMA primarios *in vitro* [11]. Un segundo TCRm desarrollado fue dirigido al antígeno tumoral de Wilms (WT1) en el contexto de HLA-A2, demostrándose eficacia *in vivo* en un modelo de ratón con LMA [12].

5. CONCLUSIÓN

A pesar de que son varias las neoplasias que ya están siendo tratadas con terapia de células T-CAR, aún queda por hacer una profunda valoración de este tipo de inmunoterapia en LMA, pues apenas se está comenzado a construir una columna terapéutica en la práctica clínica. Las principales barreras a las que se enfrenta este novedoso tratamiento son la toxicidad y las dianas fuera del tumor. Sin embargo, son muchos los esfuerzos que se están llevando a cabo en investigación, con el fin de hacer de las células T-CAR una terapia sólida y prometedora en el tratamiento de la LMA.

REFERENCIAS

- [1] Díaz Beveridge, R., and Aparicio Urtasun, J. (2003). Leucemias agudas y síndromes mielodisplásicos secundarios al tratamiento oncológico. *Anales De Medicina Interna*, 20(5), 43-54.
- [2] Renneville, A., Roumier, C., Biggio, V., Nibourel, O., Boissel, N., Fenaux, P., et al. (2008). Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia*, 22(5), 915-931.
- [3] Lagunas-Rangel, F. A. (2016). Leucemia mielóide aguda. Una perspectiva de los mecanismos moleculares del cáncer. *Gaceta Mexicana De Oncología*, 15(3), 150-157.
- [4] Deschler, B., and Lübbert, M. (2006). Acute myeloid leukemia: Epidemiology and etiology. *Cancer*, 107(9), 2099-2107.
- [5] Austin, R., Smyth, M. J., and Lane, S. W. (2016). Harnessing the immune system in acute myeloid leukaemia. *Critical Reviews In Oncology/Hematology*, 103, 62-77.
- [6] Bose, P., Vachhani, P., and Cortes, J. E. (2017). Treatment of Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia. *Current Treatment Options In Oncology*, 18(3), 1-30.
- [7] Sadelain, M., Brentjens, R., and Rivière, I. (2013). The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Cancer discovery*, 3(4), 388-398.
- [8] Hofmann, S., Schubert, M. L., Wang, L., He, B., Neuber, B., Dreger, P., Müller-Tidow, C., and Schmitt, M. (2019). Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy in acute myeloid leukemia (AML). *Journal of clinical medicine*, 8(2), 200.
- [9] Kim, M. Y., Yu, K. R., Kenderian, S. S., Ruella, M., Chen, S., Shin, T. H., Kozłowski, M. S., et al. (2018). Genetic inactivation of CD33 in hematopoietic stem cells to enable CAR T cell immunotherapy for acute myeloid leukemia. *Cell*, 173(6), 1439-1453.
- [10] Thokala, R., Olivares, S., Mi, T., Maiti, S., Deniger, D., Huls, H., McNamara, G., et al. (2016). Redirecting specificity of T cells using the sleeping beauty system to express chimeric antigen receptors by mix-and-matching of VL and VH domains targeting CD123+ tumors. *PLoS One*, 11(8).
- [11] Molldrem, J. J., Clave, E., Jiang, Y. Z., Mavroudis, D., Raptis, A., Hensel, N., Barrett, A. J., et al. (1997). Cytotoxic T lymphocytes specific for a nonpolymorphic proteinase 3 peptide preferentially inhibit chronic myeloid leukemia colony-forming units. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 90(7), 2529-2534.
- [12] Rafiq, S., Purdon, T. J., Daniyan, A. F., Koneru, M., Dao, T., Liu, C., Brentjens, R. J., et al. (2017). Optimized T-cell receptor-mimic chimeric antigen receptor T cells directed toward the intracellular Wilms Tumor 1 antigen. *Leukemia*, 31(8), 1788-1797.
- [13] Rudzki, J. D., & Wolf, D. (2020). AML—is it time to drive a CAR (-T)? *memo-Magazine of European Medical Oncology*, 13(1), 50-54.
- [14] Kim, M. Y., Yu, K. R., Kenderian, S. S., Ruella, M., Chen, S., Shin, T. H., Kozłowski, M. S., et al. (2018). Genetic inactivation of CD33 in hematopoietic stem cells to enable CAR T cell immunotherapy for acute myeloid leukemia. *Cell*, 173(6), 1439-1453.



Begoña Pérez Rojo graduada en Biología por la Universidad de Granada. Actualmente está cursando el Máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide.

GAS FOSGENO

Pilar García González

Resumen— En un contexto social en el que se evita lo máximo posible la utilización de productos que incorporen sustancias químicas, un gas altamente nocivo, y en su momento vesicante, convive con nosotros en nuestro día a día. El propósito de este artículo es describir las características del Fosgeno, su peligrosidad, tratar su presencia en la historia y en la actualidad, describir su mecanismo de acción, manifestaciones clínicas y posibles tratamientos. Así como las formas de controlar la emisión de este gas.

Palabras Claves— Efectos, Fosgeno, Gas, Venenoso, Vesicante.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad está en auge “lo natural”, se intenta eliminar la química de todo aquello que sea posible.

En esta línea encontramos la tendencia de los consumidores a favor de la comida bio/eco. Según datos del último estudio de La Asociación de Fabricantes y Distribuidores (AECOC) un 68% de los encuestados afirmó preferir este tipo de productos, pero más de un tercio de los encuestados no conocían realmente qué es un producto bio/eco [1]. Los definían como productos que se han obtenido sin la utilización de sustancias químicas, lo cual es erróneo. Definir correctamente qué es un producto bio/eco se aleja del objeto del presente artículo. El dato relevante es el gran número de personas que están a favor de eliminar todo producto químico de su alimentación, sin saber que muchos de esos productos ayudan a mejorar la calidad, seguridad y vida útil de ciertos alimentos. Otro ejemplo sería la proliferación de seguidores del movimiento anti-vacunas. Como argumento utilizan: la producción de efectos secundarios y la poca efectividad de la inmunización. Manifiestan un total convencimiento de que las vacunas son negativas y que ponen en peligro la salud. Contra tales movimientos numerosas organizaciones dedicadas a salud pública han desmentido tales argumentos con estudios sobre los múltiples beneficios que aportan y las vidas que salvan.

En estas nuevas tendencias se da publicidad a la nocividad de ciertas sustancias o productos que en multitud de ocasiones no lo son, por el contrario son necesarios para la salud pública (como las vacunas o el control de bacterias en alimentos) o son menos perjudiciales que otros que usamos en nuestro día a día con desconocimiento absoluto y que son altamente perjudiciales para la salud. En este último grupo entraría el agente químico en cuestión, el fosgeno.

2. QUÉ ES EL FOSGENO

El fosgeno (Cl_2CO) es un gas incoloro, aunque en ocasiones puede aparecer en forma de nube blanquecina o amarillenta, no inflamable y que presenta un olor similar al heno recién cortado, de tal forma que solo a grandes con-

centraciones tiene un olor molesto [2]. Escasamente hidrosoluble y 1,4 veces más pesado que el aire [3].

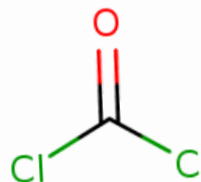


Fig. 1. Fórmula estructural del Fosgeno.

El fosgeno no se encuentra en forma natural en el medio ambiente. Por el contrario, es una sustancia química manufacturada [2]. No obstante, pequeñas cantidades se producen de forma natural en procesos de degradación de compuestos clorados [3].

El fosgeno a temperatura ambiente se encuentra en estado gaseoso pero mediante procesos de enfriamiento y presurización se transforma en líquido para su envío y almacenamiento. Como consecuencia de su estado gaseoso a temperatura ambiente, cuando se libera fosgeno líquido rápidamente se transforma en un gas que permanece muy cerca del suelo y se disemina a gran velocidad [4].

Es un gas altamente nocivo para la salud humana en determinadas cantidades.

2.1. Degradación

El gas de fosgeno es degradado en la atmósfera cuando reacciona con sustancias que se encuentran comúnmente en el aire, pero este proceso es muy lento. En el agua, el fosgeno reaccionará con el agua y se degradará a otros productos. El fosgeno que no es degradado puede evaporarse al aire. Cuando es liberado al suelo, el fosgeno no se adhiere a éste. Pequeñas cantidades pueden evaporarse al aire o pueden pasar a través de la superficie del suelo y contaminar el agua subterránea. La mayor parte del fosgeno en el suelo se degradará cuando entre en contacto con humedad [4].

Es importante mencionar que el fosgeno no se acumula en la cadena alimentaria.

3. SU PAPEL EN LA HISTORIA

La Primera Guerra Mundial es considerada la primera guerra en la que las sustancias químicas juegan un papel determinante. Se calcula que causaron 1.300.000 bajas, de las cuales alrededor de 90.000 fueron víctimas mortales.

Durante su desarrollo, sustancias químicas que se utilizaban de forma habitual en la industria química (como el cloro o el fosgeno) se emplearon como armamento [5].

Tras ver la eficacia de los ataques químicos, ambos bandos pusieron en marcha programas de investigación y desarrollo en este campo. De esta forma nacieron los denominados agentes vesicantes de guerra, un grupo de armas químicas entre las que se encuentran las mostazas de azufre, las mostazas de nitrógeno, las lewisitas y la oxima de fosgeno [6].

Entre los agentes químicos que se usaron con fines bélicos, el fosgeno fue el más utilizado y el responsable de la mayoría de las muertes. Éste es más tóxico que el cloro (otro de los agentes químicos más empleados) pero presenta una latencia de varias horas (2-24 horas) desde que la víctima se veía expuesta hasta que se manifestaban los primeros síntomas, de tal forma que los combatientes no eran conscientes de que estaban siendo intoxicados [6]. El fosgeno era (y es) más tóxico pero tardaba más en actuar por lo que en muchas ocasiones se optó por el cloro u otros elementos pese a la elevada toxicidad del fosgeno.

Los primeros en utilizarlo en combate fueron los alemanes. El 19 de diciembre de 1915, 4.000 bombonas cargadas con un 75% de cloro y un 25% de fosgeno se emplearon contra los británicos en Wiltje, Bélgica, causando más de mil bajas, 120 de ellas mortales. Tuvieron que pasar seis meses hasta que los aliados respondieran usando bombonas cargadas con una mezcla de cloro y fosgeno al 50%, bautizada con el nombre de "estrella blanca" [5].

A partir de la Primera Guerra Mundial este tipo de armamento se convertirá en un factor determinante en la resolución de conflictos bélicos, como se evidencia en la Segunda Guerra Mundial y en actuales conflictos. Pese a su prohibición por parte de las autoridades internacionales tras la Convención de Armas Químicas de 1997, convención ratificada por las potencias mundiales y otros países, el uso de armamento químico se ha corroborado: en la guerra entre Irán e Irak en los años 80 por ambos bandos; en la guerra civil siria; en el asesinato de Kuala Lumpur de Kim Jongnam, el hermanastro del líder de Corea del Norte, con un agente nervioso muy letal conocido como VX en 2017; en el intento de asesinato del ex espía ruso Sergei Skripal y a su hija en Salisbury, Reino Unido en marzo de 2018 con un agente químico altamente nocivo denominado novichok; entre otros casos [7].

La OPAQ es la Organización Internacional que los Estados Partes adherentes a la Convención sobre las Armas Químicas crearon en 1997 para asegurar la eficacia de la Convención y el logro de sus fines. Trabajan para verificar y confirmar la destrucción de las armas químicas existentes; mantener la vigilancia sobre ciertas actividades de la industria química para aminorar el riesgo de que sustancias químicas comerciales se empleen con fines de armas químicas; prestar asistencia y protección a los Estados Miembros que fuesen atacados o amenazados con armas

químicas; y promover la cooperación internacional para el empleo de la química con fines pacíficos [8].

En su artículo uno recoge que todos los Estados parte de la Convención deben [9]:

- a) *No desarrollar, producir, adquirir de otro modo, almacenar o conservar armas químicas ni a transferir esas armas a nadie, directa o indirectamente;*
- b) *No emplear armas químicas;*
- c) *No iniciar preparativos militares para el empleo de armas químicas;*
- d) *No ayudar, alentar o inducir de cualquier manera a nadie a que realice cualquier actividad prohibida a los Estados Partes por la presente Convención.*

Siendo relevante la definición de "armas químicas" (artículo 2) [9]:

- a) *Las sustancias químicas tóxicas o sus precursores, salvo cuando se destinen a fines no prohibidos por la presente Convención, siempre que los tipos y cantidades de que se trate sean compatibles con esos fines;*
- b) *Las municiones o dispositivos destinados de modo expreso a causar la muerte o lesiones mediante las propiedades tóxicas de las sustancias especificadas en el apartado a) que libere el empleo de esas municiones o dispositivos; o*
- c) *Cualquier equipo destinado de modo expreso a ser utilizado directamente en relación con el empleo de las municiones o dispositivos especificados en el apartado b).*

La relevancia de cómo define la Convención el término "armas químicas" estriba en la defensa que han hecho algunos Estados Parte ante denuncias de incumplimiento del texto referido. Empleaban la no prohibición expresa en la Convención del agente químico en cuestión, cuando ésta como vemos no hace una enumeración cerrada de las sustancias que se considerarán armas químicas.

Se ha visto un uso tan frecuente de armas químicas pese a su prohibición que no sería de extrañar una nueva proliferación descontrolada. Agravando la situación la realidad de que en la actualidad los conocimientos, así como los recursos técnicos para la producción de armamento químico, son mucho más elevados que en la Primera y la Segunda Guerra Mundial.

Ya lo dijo a su manera Fritz Haber, a quien se considera padre de la guerra química, en la ceremonia de entrega del Nobel de Química de 1918: "En ninguna guerra venidera los militares podrán ignorar los gases tóxicos. Son una forma superior de matar".

4. PRESENCIA EN LA ACTUALIDAD

En la actualidad, el fosgeno es usado en la elaboración de productos químicos como por ejemplo tinturas, isocianatos y cloruros ácidos. También se usa en la manufactura de plaguicidas, medicamentos, plásticos, pesticidas y para separar minerales [4]. En consecuencia, como fuentes de intoxicación encontramos la industria química.

También es una fuente de intoxicación por fosgeno la exposición de productos domésticos tales como decapantes, disolventes o productos de limpieza en seco al calor o al fuego; la combustión de hidrocarburos clorados o la sol-

dadura de metales limpiados con estos últimos [3].

Por tanto, aunque la población general está expuesta a niveles muy bajos de fosgeno, determinados colectivos si que se ven sometidos a una mayor exposición y consecuentemente tendrán un riesgo de intoxicación más elevado. Por ejemplo, sería el caso de soldados de metales que han sido limpiados con solventes clorados y de trabajadores en la producción de tinturas y plaguicidas. Se considera que las concentraciones altas de fosgeno en el aire (más de 2 partes por millón) son un peligro inminente para la vida y la salud [2].

No hay que olvidar que, pese a los bajos niveles a los que la población general se ve expuesta, los medicamentos o los pesticidas son productos con los que convivimos día a día, lo que a largo plazo puede perjudicar la salud.

El hecho de entrar en contacto en un momento aislado en el tiempo no conlleva la afección por el tóxico de forma automática. La efectiva intoxicación y el grado de afección dependerán de numerosos factores como son: la proximidad de las personas respecto del lugar en que se libera este agente, la cantidad que haya en el aire y del tiempo que una persona esté expuesta a este agente químico.

4.1. Mecanismo de acción

El grupo CO del fosgeno (Cl-CO-Cl) es el que destruye los aminoácidos responsables del mantenimiento de la integridad alveolar. Tras ser depositado en los alveolos, el fosgeno es lentamente hidrolizado a ácido hidroclicórico. También causa una parálisis simpática que induce una vasoconstricción de las vénulas pulmonares, lo que incrementa todavía más la permeabilidad alvéolo-capilar empeorando el edema pulmonar (distrés respiratorio) [6].

4.2. Manifestaciones clínicas

Una exposición a bajas concentraciones causa lagrimeo, síntomas de irritación de la vía aérea superior, náuseas y dolor de cabeza. La exposición a altas concentraciones ocasiona edema pulmonar tras un periodo de latencia de horas o minutos, precedido de tos, hemoptisis y disnea. El aumento de la permeabilidad capilar produce pérdida de líquidos e hipotensión arterial. Los pacientes que se recuperan pueden quedar con secuelas pulmonares: hiperreactividad bronquial y bronquitis crónica [3]. También puede provocar insuficiencias cardíacas y baja tensión arterial.

Si el fosgeno, en forma de gas o líquido, entra en contacto con la piel o los ojos puede ocasionar quemaduras químicas. El fosgeno líquido también puede causar congelación, daño en la cavidad oral, garganta, esófago y estómago. No obstante, es muy inusual entrar en contacto con el fosgeno en estado líquido [2].

Una intoxicación a niveles muy altos podría causar una insuficiencia respiratoria que llegara a causar la muerte. Precisamente, por esta capacidad de asfixia fue uno de los gases más empleado en la Primera Guerra Mundial y el responsable del mayor número de muertes, como se mencionaba con anterioridad. Hasta transcurridas 48 horas del contacto con este gas no se puede descartar la posible

aparición de efectos [2].

Pese al gran número de muertes que causó en aquella época, actualmente con los controles sobre gases tan venenosos como éste y con los medios sanitarios y tecnológicos existentes, la prevalencia de muertes tiene unos niveles bajos. Alrededor de un 3% del total de las intoxicaciones graves y el 9% del total de las intoxicaciones no medicamentosas [3].

La dosis letal (dosis de una sustancia que produce la muerte en un sistema dado) es de 50 ppm [3].

5. TRATAMIENTO

Es fundamental llevar a cabo una descontaminación del afectado una vez retirado de la zona de exposición. Para ello, lo mejor es sutilizar previamente un material absorbente, como tierra de Fuller, y a continuación lavar con agua abundante. Sobre los ojos será necesario también un lavado con agua abundante de forma inmediata [6].

Respecto a las lesiones pulmonares, su tratamiento es inespecífico y consiste en una correcta oxigenación, ventilación mecánica si aparece insuficiencia respiratoria aguda grave, así como estabilización hemodinámica con monitorización de las presiones de llenado con un catéter de Swan-Ganz. Se han mostrado eficaces los antibióticos profilácticos y corticosteroides que reducirían el daño alveolar difuso y la mortalidad de esta severa complicación [3]. Respecto a las lesiones oculares, se debe recurrir a analgésicos sistemáticos ya que los locales pueden aumentar el daño de la córnea. Se deben administrar midriáticos para prevenir adherencias entre el iris y la córnea. Si se produjera acumulación de secreciones se debe lavar con suero fisiológico estéril y para impedir que los párpados se peguen, puede aplicarse petroloato estéril [6].

En cuanto al resto de lesiones, como quemaduras, no hay tratamientos específicos relevantes. Aplicándose los protocolos generales existentes en cada materia.

6. FORMAS DE CONTROL DE EMISIÓN

Además de dar cumplimiento a toda la normativa existente en este campo, contribuye al control de la emisión de fosgeno y a la consiguiente reducción de sus efectos, la búsqueda de métodos o sustancias alternativas al fosgeno menos tóxicas (tanto para el hombre como para el medio ambiente) y que puedan finalmente sustituirlo.

Ya se han propuesto alternativas a procesos que en principio incluyen reacciones con Fosgeno, para utilizar en su lugar reactivos con poca toxicidad. Por ejemplo, se ha desarrollado un procedimiento para la síntesis de policarbonato, que tradicionalmente se lleva a cabo a partir de bisfenol A con fosgeno, a partir de difenilcarbonato. Obtenido éste último de una forma alternativa a la tradicional, debido a que la síntesis tradicional de dimetilcarbonato también emplea Fosgeno [10]. "Alternativas verdes" que afortunadamente cada vez cobran mayor importancia.

En esta misma dirección hacia el control de emisión de

Fosgeno trabaja un grupo de investigadores del Departamento de Sistemas Físicos, Químicos y Naturales de la Universidad Pablo de Olavide. Trabajan en la búsqueda de un método que permita controlar los niveles de fosgeno y que además sea sencillo mediante la utilización de dispositivos baratos [11]. La abundante utilización del Fosgeno en en la industria y la investigación químicas hacen que sea urgente buscar métodos de control efectivo con posibilidad de ser implantado en el sector. Los sistemas de coste elevado que existen actualmente hacen que las empresas se resistan o intenten eludir su utilización.

7. CONCLUSIONES

Las redes sociales (RRSS) se han integrado con fuerza en la sociedad. El gran poder que tienen ya no es ningún secreto. Como toda herramienta, las RRSS pueden ser un arma de doble filo. Permiten dar voz a muchas personas, nos permiten expresar nuestras opiniones. El problema reside en la incapacidad de un gran número de usuarios de diferenciar una opinión personal sin base o un mensaje con fines publicitarios, de una opinión profesional de expertos en la materia. Dando lugar a la desinformación, entendida como información errónea que se da, generalmente de manera intencionada para alcanzar algún objetivo. Aquí se enmarca alguno de los movimientos que se mencionaban en la introducción del presente artículo.

Se potencia la compra de productos bio/eco sin informar correctamente del significado de esta etiqueta. La publicidad que muchos *influencers* (personajes públicos con gran poder de difusión en las redes sociales) hacen de estos productos se basa en gran medida en la ausencia de productos químicos en su obtención o manufactura, lo que no es correcto. Transmiten al público una visión negativa de los agentes químicos cuando en multitud de ocasiones ayudan a mejorar la calidad, seguridad y vida útil de los alimentos.

Por el contrario, se enmascara el carácter perjudicial de agentes químicos que realmente no deberían ser empleados. El Fosgeno, con su alto potencial como agente tóxico se emplea en medicamentos, plásticos, pesticidas, plaguicidas, etc. Productos que forman parte de nuestro día a día. ¿Cómo puede la industria química emitir agentes químicos utilizados en la Primera y Segunda Guerra Mundial como gas asfixiante sin ser motivo de alarma mientras pesticidas que no suponen riesgo para la salud se venden como algo a evitar a toda costa? Es importante en el presente contexto social aprender a clasificar, analizar y cuestionar la información que nos llega, y los objetivos que pueden existir tras su divulgación en algunos casos.

REFERENCIAS

- [1] Web de la AECOC. <https://www.aecoc.es/articulos/los-4-perfiles-del-consumidor-de-productos-eco-y-bio/>
- [2] Web of Illinois Poison Center. <https://www.illinoispoisoncenter.org/phosgenefactsheet>
- [3] <http://www.fetoc.es/toxicologianet/pages/x/x12/x12h/01.htm> (Enlace a la web Toxicologia.net sobre índices de tóxicos).
- [4] Web de la ATSDR (Agency for Toic Substance & Disease Regis-

try).<https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tf.asp?id=1479&tid=182>

- [5] Web de la Vanguardia, periódico. <https://www.lavanguardia.com/historiayvida/historia-contemporanea/20190123/47309721488/los-5-gases-mas-mortiferos-de-la-i-guerra-mundial.html>
- [6] R. Pita y S.Vidal-Asensi, "Toxicología cutánea y sistemática de los agentes vesicantes de Guerra," *ACTAS Dermo-Sifiliográficas*, vol.101, no.1, pp. 7-12, Mayo/Julio 2009, doi:10.1016/j.ad.2009.07.012.
- [7] Web de la BBC (British Broadcasting Corporation) <https://www.bbc.com/mundo/noticias-internacional-43798506>
- [8] Documento de la OPAQ en el que describe su perfil como organización. https://www.opcw.org/sites/default/files/documents/publications/profiles/profiles_spanish.pdf
- [9] Texto legal: Convención sobre la prohibición del desarrollo, la producción, el almacenamiento y el empleo de armas químicas, y sobre su destrucción (artículo 1 y 2).
- [10] Doria Serrano y M^a. Del Carmen, "Química verde: un nuevo enfoque para el cuidado del medio ambiente," *Educación Química*, vol.20, no.4, pp. 412-420, Enero 2009
- [11] Web de la Universidad Pablo de Olavide sobre el catálogo de ofertas tecnológicas de la universidad. <https://www.upo.es/upotec/catalogo/quimica-y-materiales/disenio-de-un-nuevo-metodo-de-control-y-deteccion-d/>

Figura 1. Fórmula estructural del Fosgeno. Obtenida de la página web Toxnet (Toxicology data network).



Pilar García González. Estudiante de 5º curso de Derecho y Criminología.

La Mamba Negra

Claudia Pavón Burgos

Resumen—En el presente artículo se trata la mamba negra, y todo lo relacionado con ella, sus características, su veneno, capacidad para matar, antídoto y otros posibles usos que se le pueden dar a una sustancia tóxica. Las serpientes son tanto un símbolo de maldad, como aparecen en las escrituras religiosas, como consideradas algo bueno, así como en el emblema de la medicina, y de la misma forma, su veneno puede ser un arma para matar y al mismo tiempo algo que puede ayudar a mejorar la vida de las personas si se estudia y trata debidamente.

Palabras Claves—Serpiente, Veneno, Antídotos, Morfina, Andreas Laustsen, LD₅₀, Mambalginas

1. INTRODUCCIÓN

Las mordeduras de serpientes son un problema de salud pública en muchos países, cada año se producen unos 5,4 millones de mordeduras, que causan entre 1,8 y 2,7 millones de envenenamientos, entre 81.410 y 137.880 muertes, y aproximadamente el triple de amputaciones y otras discapacidades permanentes.

Los efectos son más graves y rápidos en niños debido a su menor masa corporal.

A diferencia de otros trastornos graves, los tratamientos son muy eficaces y la mayoría de las muertes ocurren por su escasa disponibilidad. La OMS ha incluido los antídotos para mordeduras en la lista de Medicamentos Esenciales que deben formar parte de todo centro de atención primaria en lugares donde haya serpientes venenosas.

Sin embargo hay pocos países productores de antídotos y la mayoría de las muertes se producen en zonas con sistemas sanitarios débiles y poca regulación para controlar la calidad de estos antídotos.

El África sub-sahariana, hábitat natural de la mamba negra ha sufrido especialmente por estos problemas, puesto que depende de productos importados que pueden no cumplir los estándares de seguridad, muchos de los productos que se comercializan en África han demostrado ser inefectivos y tener un manejo poco seguro [1]

En los últimos años muchos países han parado o reducido su producción de antídotos como resultado de la competencia que le suponían esos productos más baratos y de baja calidad, sin embargo, esta baja calidad ha llevado a un desastroso resultado en muchas de las víctimas y ha generado desconfianza en la efectividad de los tratamientos, numerosos países han, por estos motivos, dejado de demandar productos, lo que ha llevado a un aumento de precio espectacular en los restantes, bajando aún más la demanda. [1] La introducción de antídotos no idóneos, no sometidos a las pruebas pertinentes, e incluso falsificados ha socavado la confianza general en el tratamiento.

Es por ello que la OMS ha querido concienciar a la sociedad de la importancia del tratamiento, en 2015 presentó un programa para evaluar la seguridad y

eficacia de los antídotos destinados a ser utilizados en África, entre ellos el de la mamba negra cuyos resultados han sido publicados a principios de 2018. Y en junio de 2017 a petición de varios miembros de las Naciones Unidas, se incluyó el envenenamiento por mordeduras de serpientes entre las enfermedades tropicales desatendidas más prioritarias. [2]

2. CARACTERÍSTICAS

La mamba negra o *Dendroaspis Polylepis* es una de las serpientes más venenosas del mundo, y la serpiente venenosa más grande de África, tiene una longitud media de 2'5 metros y una longitud máxima registrada de 4'5 metros.

Su nombre no viene de el color de su piel, sino del color negro que tiene el interior de su boca. Es una de las especies más rápidas puesto que puede desplazarse a una velocidad de hasta 20 kilómetros por hora.

Son diurnas aunque pueden cazar tanto de día como de noche, pueden alzar la cabeza hasta un metro por encima del suelo, y pueden mantenerla hasta a 50 cm incluso mientras se desplazan. [3]

A diferencia de otras serpientes como las cobras, la mamba suelta a la presa después de morderla y puede volver a morder repetidamente, por lo que es importante revisar bien a las posibles víctimas para averiguar si hay más de un mordisco, y así poder tratarlos todos.

El contrabando y las exhibiciones de serpientes exóticas aumentan la posibilidad de que las mordeduras no estén enteramente relegadas a su hábitat natural, además la mamba negra es una serpiente proclive a los desplazamientos lo que contribuye a que ocurran frecuentes encuentros con humanos y aunque normalmente suelen huir si se topan con uno, pueden atacar si se sienten acorraladas, lo que ocurre cada vez más por la construcción en zonas que antes eran silvestres, y sin duda alguna atacan a todo lo que se encuentre entre ellas y su madriguera.

Aunque parezca una contradicción dado que su primer instinto es huir, las serpientes se están viendo cada vez más atraídas por zonas pobladas y super pobladas, Los

estudios muestran que se benefician de esto puesto que una de sus principales fuentes de alimento son los ratones y otros roedores que tienden a existir e incluso multiplicar sus números en zonas pobladas dado que les proporcionamos accidentalmente comida y refugio, y esto a su vez atraen a las serpientes. [1]

Todo esto unido a su ferocidad, su habilidad para atacar repetidamente sin pausa, la cantidad de veneno que inyecta en cada mordedura, la toxicidad de este y su velocidad la hacen una asesina muy letal y a tener en cuenta.[4]

3.VENENO

3.1 Contenido

Su veneno contiene potentes neurotoxinas, que actúan rápidamente alterando la actividad normal del sistema nervioso, y también carditoxinas que causan daño al músculo cardíaco, incluyendo la calciseptina.[3]

El veneno de la mamba negra contiene dendrotoxinas que son una clase de neurotoxina que bloquea los canales de potasio que incrementan la liberación de neurotransmisores. Estas neurotoxinas interactúan con los canales de potasio, lo que provoca efectos de excitación debido a la facilitación de liberación de acetilcolina y la potenciación de su efecto en la terminal nerviosa presináptica.

Contiene además neurotoxinas- α que bloquean la transmisión neuromuscular.

También contiene calciseptina, un péptido que se ha comprobado que puede bloquear los canales de calcio tipo L, inhibiendo la contracción de músculos y la función cardíaca. [5]

3.2. Toxicidad del veneno

Después del mordisco la parálisis puede ocurrir rápidamente o con retraso, las diversas fuentes datan que los primeros efectos pueden empezar a ocurrir entre 15 y 20 minutos tras el mordisco, y hasta 120 minutos después de este. [4]

El Kruger National Park en Suráfrica lo ha calificado como un veneno de acción rápida, que paraliza el sistema nervioso y por ende a la víctima, y que si no es tratado con el correspondiente antídoto supone la muerte en el 100 por cien de los casos, en tan poco tiempo como 20 minutos, aunque según sus archivos la mayoría de las muertes se producen entre los 30 minutos y las 3 horas. [6]

Puede inyectar de 100 a 120 mg de veneno por mordedura, cantidad que puede llegar hasta los 400 mg en algunas situaciones, se considera que unos 15 mg son suficientes para matar a un humano adulto.[3],[7]

Teniendo en cuenta los canales por los que el veneno puede llegar al cuerpo de la víctima, encontramos de forma intravenosa y subcutánea como los más

importantes, si miramos la DL50, es decir la cantidad necesaria para matar a la mitad de la población a la que se le administra el veneno, en el caso de la intravenosa la mamba negra ocupa el puesto 53 en el ranking de serpientes más peligrosas en una lista que recoge 265 especies, sin embargo se tiene que dar más importancia a los datos que se obtienen si el veneno se administra de forma subcutánea puesto que en pocos de los ataques hay posibilidades altas de que el veneno y por ende la mordedura coincidan directamente con una vena, y en este caso, la mamba negra sube al puesto 6 en el ranking necesitando sólo 0'055 mg de veneno para matar a la mitad de la población de ratones a los que se administró. [8],[9]

3.3 Efectos del veneno

Ya hemos hablado de que el veneno de la mamba contiene dendrotoxina- α que bloquea los canales de potasio, y que llevó a un grupo de científicos a estudiar sus efectos al inyectarla en distintas áreas del cerebro de ratones.

Como resultado se obtuvo que una sola inyección de 35 pmol en el área CA1 del hipocampo producía inmediatamente convulsiones. Seguidas a las 24 horas de daño cerebral y una significativa pérdida neuronal. El daño cerebral era más extendido, sin embargo la pérdida neuronal se centraba en la zona próxima a la zona de la inyección.

Una dosis menor, de 3'5 pmol, producía convulsiones pero no causaba daños cerebrales. [10]

3.4 Sintomas

Los síntomas generales como la hipotensión, las náuseas, vómitos y fiebre entre otros se manifiestan alrededor de 30 o 40 minutos tras la mordedura.

Los síntomas neurológicos y neuromusculares, son los primeros en manifestarse normalmente, pero no todos ellos tienen que llegar a producirse, incluyen entre otros, disfagia, fasciculaciones, parálisis respiratoria, pérdida repentina de consciencia, parálisis palatal y de extremidades, dolor de cabeza, ataxia, etc. En algunos casos también ha tenido lugar un fallo renal agudo.

A diferencia del veneno de otras serpientes, el de la mamba negra no produce daño tisular.

Puede que los síntomas más importantes de todos sean la parálisis de los músculos respiratorios y el colapso circulatorio, que acaban finalmente ocasionando la muerte si no se recibe tratamiento o se recibe de forma tardía. [4], [11]

4.ANTÍDOTO

Los que se están usando actualmente se consiguen mediante el plasma extraído de animales inmunizados, y contienen anticuerpos contra el veneno pero también contra otros antígenos, y además están asociados a una serie de reacciones adversas en los pacientes a quienes se les suministra.

Andreas Laustsen desde la universidad de Dinamarca está proponiendo nuevas fórmulas para crear antídotos haciendo uso de los nuevos avances técnicos.[12]

Una de las cosas que este autor ha descubierto es que los antídotos que se usan actualmente aunque funcionan, tienen más efecto sobre las neurotoxinas del veneno, que sobre las dendrotoxinas, y es por ello que señala este como el camino a seguir en la búsqueda de mejores soluciones.[13]

Laustsen ha encontrado una fórmula que parece neutralizar la dendrotoxina mediante una mezcla de anticuerpos humanos, que ha funcionado en experimentos con ratones.

Se trata de anticuerpos monoclonales de inmunoglobulina G (IgG), a diferencia de los antídotos producidos mediante los animales inmunizados estos son compatibles con el sistema inmunitario humano reduciendo los efectos secundarios que producen los otros.

Los resultados de su investigación dejan ver que para acabar con los efectos del veneno es necesario una mezcla oligoclonal cuidadosamente seleccionada de IgG, y que el uso de estos supone la promesa de un tratamiento más seguro y efectivo para tratar el envenenamiento por mordedura, en su mayor parte gracias a que son compatibles con el sistema inmunitario humano y a la posibilidad de incluir únicamente anticuerpos con valor terapéuticos en el antídoto. [14]

5. OTROS USOS DEL VENENO

El veneno de la mamba ha servido para descubrir dos compuestos con efecto analgésico que han sido llamados mambalginas, y que impiden el funcionamiento normal de los canales de iones del sistema nervioso que son responsables del dolor.

Su función de alivio del dolor se basa en la inhibición, en neuronas, de canales iónicos que hasta el momento no estaban relacionados con el dolor, ASIC1 y ASIC2.

Los experimentos con ratones demuestran que mantiene el dolor a raya tan bien como la morfina pero a diferencia de esta, no ralentiza la respiración y el cuerpo no crea tolerancia a las mambalginas tan rápido como lo hace con la morfina por lo que podría hacer desaparecer el dolor durante más tiempo, sin crear tanta adicción.

Su uso no muestra toxicidad ni efectos secundarios, pero de momento sólo ha sido probado en dolores agudos e inflamatorios, no se conoce su eficacia frente a condiciones más crónicas como daños en nervios. [15],[16]

6. CONCLUSIONES

El veneno es un arma letal que se ha venido usando durante siglos, y es una verdad ineludible que los más eficaces está en la naturaleza, entre ellos el veneno de la

mamba, con este artículo se puede empezar a ver que aunque es una sustancia peligrosa, tiene también otros posibles usos muy beneficiosos, a pesar de que no están tan desarrollados como cabría esperar. Existen aún carencias importantes que deben ser subsanadas por los investigadores en colaboración y lo que es más importante con el apoyo de los Estados.

Se ha dejado un poco de lado su investigación y la creación de antídotos porque en algunos países como España no tenemos muchas serpientes mortíferas, sin embargo y como sugiere el artículo, cada vez más frecuentemente se están encontrando ejemplares de animales no autóctonos que se reproducen con facilidad al no tener aquí a sus depredadores naturales, por el contrabando, lo que hace que especies exóticas y peligrosas de animales acaben en nuestro país, y aunque muchas veces se indica que se les ha quitado el veneno, esto es muy difícil de hacer, por lo que no está de más adquirir nuevos conocimientos e invertir en algo que puede ser importante para el futuro de muchas personas en todo el mundo.

REFERENCIAS

- [1] S. Sciences, O. Centres, P. Therapeutics and T. Snakebite, "The Global Scale of Snakebite : School of Biomedical Sciences", *School of Biomedical Sciences*, 2018. [Online]. Available: <https://biomedicalsciences.unimelb.edu.au/departments/pharmacology/engage/avru/discover/snakebite-envenoming-a-neglected-tropical-disease>. [Accessed: 13- Nov- 2018].
- [2]"Mordeduras de serpientes venenosas", *World Health Organization*, 2018. [Online]. Available: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/snakebite-envenoming>. [Accessed: 13- Nov- 2018].
- [3]"Mamba negra", *Info Serpientes*, 2018. [Online]. Available: <https://www.infoserpientes.com/mamba-negra>. [Accessed: 13- Nov- 2018].
- [4] *Wemjournal.org*, 2018. [Online]. Available: [https://www.wemjournal.org/article/S1080-6032\(96\)71002-5/pdf](https://www.wemjournal.org/article/S1080-6032(96)71002-5/pdf). [Accessed: 13- Nov- 2018].
- [5] M. J R de Weille, "Calciseptine, a peptide isolated from black mamba venom, is a specific blocker of the L-type calcium channel.", *PubMed Central (PMC)*, 2018. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC51247/?page=2>. [Accessed: 13- Nov- 2018].
- [6]L. Science, "Black Mamba Facts", *Live Science*, 2018. [Online]. Available: <https://www.livescience.com/43559-black-mamba.html>. [Accessed: 13- Nov- 2018].
- [7]"Las 5 serpientes mas venenosas del mundo | La Reserva", *Lareserva.com*, 2018. [Online]. Available:

http://www.lareserva.com/home/las_5_serpientes_mas_venenosas [Accessed: 13-Nov-18]
 . [Accessed: 13- Nov- 2018].

[8]S. Steinhoff, "venom reference |
 snakedatabase.org", *Snakedatabase.org*, 2018. [Online]. Available:
<http://snakedatabase.org/ld50/dendroaspis/polylepis>. [Accessed:
 13- Nov- 2018].

[9]"LD50 for various snakes.", *Seanthomas.net*, 2018. [Online].
 Available: <http://seanthomas.net/oldsite/ld50tot.html>. [Accessed:
 13- Nov- 2018].

[10]G. Bagetta, G. Nisticó and J. Dolly, "Production of seizures and
 brain damage in rats by α -dendrotoxin, a selective K^+ channel
 blocker", *sciencedirect*, 1992. [Online]. Available:
[https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/030439409](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/030439409290851W)
 290851W. [Accessed: 13- Nov- 2018].

[11]"Black Mamba (Dendroaspis polylepis
 polylepis)", *Web.archive.org*, 2012. [Online]. Available:
[https://web.archive.org/web/20121102174433/http://drdavidson.](https://web.archive.org/web/20121102174433/http://drdavidson.ucsd.edu/portals/0/snake/dendroa3.htm)
[ucsd.edu/portals/0/snake/dendroa3.htm](https://web.archive.org/web/20121102174433/http://drdavidson.ucsd.edu/portals/0/snake/dendroa3.htm). [Accessed: 13- Nov-
 2018].

[12]e. Laustsen AH, "From Fangs to Pharmacology: The Future of
 Snakebite Envenoming Therapy. - PubMed -
 NCBI", *Ncbi.nlm.nih.gov*, 2016. [Online]. Available:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27339430>. [Accessed: 13-
 Nov- 2018].

[13]e. Laustsen AH, "Unveiling the nature of black mamba
 (Dendroaspis polylepis) venom through venomics and antivenom
 immunoprofiling: Identification of key toxin targe... - PubMed -
 NCBI", *Ncbi.nlm.nih.gov*, 2015. [Online]. Available:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25688917>. [Accessed: 13-
 Nov- 2018].

[14]A. Laustsen and A. Karatt-Vellatt, "in vivo neutralization of
 dendrotoxin-mediated neurotoxicity of black mamba venom by
 oligoclonal human IgG antibodies", *naturecommunications*, 2018.
 [Online]. Available: [https://www.nature.com/articles/s41467-018-](https://www.nature.com/articles/s41467-018-06086-4)
 06086-4. [Accessed: 13- Nov- 2018].

[15] A. Baron, S. Diochot, " Black mamba venom peptides target
 acid-sensing ion channels to abolish pain", *nature*, 2012. [Online].
 Available: [https://www.nature.com/articles/nature11494.epdf?](https://www.nature.com/articles/nature11494.epdf?referrer_access_token=kvXfUDC72Mnz9nzYsfclUdRgN0jAjWel9jnR3Z6Tv0NKXWYhmu1tr5AVRZJHvkU-99HyTqI2jKYSmvQBLfCj3d6t3o369g_uTyIqkao9Yu8XTsseHHkEVhXVWgbGxcAkMPBliADSc-OXf9_y-nK8KpO_G7_fajY4P5M0uzaKIvFpfoQvZgQfuV4bvQNufORO7-jGWQs2zuJHIHQ-q_4dJJVRtCoHOOK2-5CkNhaNdYOOwrqy1cqF6tCSKJmHfCCvT4GM4HGdJJPzIdP_ilkw%3D%3D&tracking_referrer=www.scientificamerican.com)
 referrer_access_token=kvXfUDC72Mnz9nzYsfclUdRgN0jAjWel9jnR
 3Z6Tv0NKXWYhmu1tr5AVRZJHvkU-
 99HyTqI2jKYSmvQBLfCj3d6t3o369g_uTyIqkao9Yu8XTsseHHkEVh
 XVWgbGxcAkMPBliADSc-OXf9_y-
 nK8KpO_G7_fajY4P5M0uzaKIvFpfoQvZgQfuV4bvQNufORO7-
 jGWQs2zuJHIHQ-q_4dJJVRtCoHOOK2-
 5CkNhaNdYOOwrqy1cqF6tCSKJmHfCCvT4GM4HGdJJPzIdP_ilkw
 %3D%3D&tracking_referrer=www.scientificamerican.com
 [Accessed: 13-Nov-18]

[16] S. Diochot, A. Baron, "Analgesic effects of mambalgin peptide
 inhibitors in ion-sensing channels in inflammatory and neuropathic
 pain", *researchgate*, 2015 [Online]. Available:
[https://www.researchgate.net/publication/283206896-Analgesic_e](https://www.researchgate.net/publication/283206896-Analgesic_effects_of_mambalgin_peptide_inhibitors_of_acid-sensing_ion_channels_in_inflammatory_and_neuropathic_pain)
 ffects_of_mambalgin_peptide_inhibitors_of_acid-
 sensing_ion_channels_in_inflammatory_and_neuropathic_pain

Claudia Pavón Burgos estudiante de la asignatura de
 química forense en el doble grado de derecho y
 criminología.

¿ES EL CAPTAGON LA DROGA DE LOS TERRORISTAS?

Luna Villar Mateos

Resumen— La Fenetilina, comúnmente denominada como Captagon se trata de una droga psicoestimulante producida por la combinación de anfetamina y teofilina. En un primer momento se utilizó como medicamento, pero en la actualidad se trata de una sustancia que está prohibida en la mayoría de los países debido a los peligrosos efectos secundarios que puede acarrear. Desde el comienzo de la guerra en Siria y en el entorno de los países de Medio Oriente ha cobrado gran protagonismo, produciéndose cantidades ingentes de este producto en laboratorios clandestinos modificándose su composición originaria.

Palabras Claves— Anfetamina, Captagon, Droga, Fenetilina, Terrorista.

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo de los últimos años Siria está inmersa cada vez más en una guerra civil, se trata de un conflicto muy brutal y sangriento que ha acabado con la vida de más de 450.000 personas y ha provocado que más de 5 millones de personas hayan tenido que huir de sus ciudades, todo ello se ha visto alimentado por la explotación y el consumo de grandes cantidades de drogas ilegales [1], como es el caso del Captagon, sustancia a la que se realizará un minucioso análisis en este artículo.

Este conflicto no se ha quedado dentro de las fronteras de Siria sino que se ha extendido a otros países llegando hasta Europa, el cual se ha manifestado con una serie de ataques terroristas producidos en ciudades europeas como Londres, París, Bruselas o Barcelona.

La prensa francesa reveló que en los atentados de París los terroristas podían haber estado bajo los efectos de Captagon, que se trata de una droga de consumo muy difundido por el Medio Oriente y que se había hallado en la sangre de otros terroristas suicidas del Estado Islámico. Esta noticia tuvo relevancia debido a que en los lugares donde se habían aposentado los terroristas se habían hallado jeringuillas que supuestamente contenían Captagon, la revista *Le Point* afirmó lo siguiente “Algunas jeringas, conteniendo esta sustancia, fueron halladas en varios lugares donde vivió Salah Abdeslam, un miembro de los comandos que cometieron los ataques del 13 de noviembre, y en las casas de algunos cómplices” [2]

2. CAPTAGON: COMENZÓ COMO UN MEDICAMENTO Y SE HA CONVERTIDO EN UNA DROGA

Captagon fue el nombre comercial de un medicamento cuyo principio activo era la Fenetilina. La Fenetilina también conocida como amfetaminoethyltheophylline y amfetyline se trata de la unión química de anfetamina y teofilina. Se comenzó a comercializar para su uso como psicoestimulante bajo las marcas Captagon, Biocapton y Fitton.

La Fenetilina ($C_{18}H_{23}N_5O_2$) tiene la siguiente estructura química (figura 1)[3] y fue sintetizada por primera vez por el alemán Degussa AG en 1961 como parte de un programa de investigación sobre los efectos secundarios que poseían los derivados de la teofilina particularmente en el sistema nervioso cardiovascular, pulmonar y central [4]. Este medicamento se empleó para el tratamiento de la depresión, de la narcolepsia o del trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TFAH).

En 1981 fue incluida la Fenetilina en el “Schedule I” de sustancias controladas por la U.S Food&DrugAdministration (FDA) y cinco años más tarde fue incluida en la lista de fiscalización internacional de Naciones Unidas, y con ello se prohibió la Fenetilina a nivel global [5].

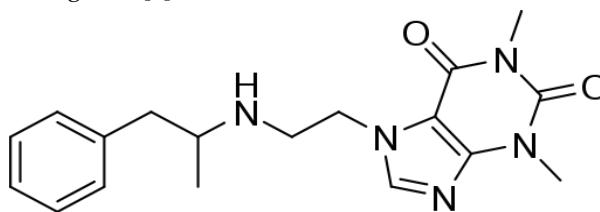


Fig. 1. Estructura Fenetilina [3]

La Unión Soviética comenzó a producirla sobre todo en Bulgaria. Esta sustancia fue exportada a los países occidentales de manera ilegal y los beneficios obtenidos por el tráfico de la misma ayudaron a la financiación del régimen comunista. Después de la caída del muro de Berlín en 1989, gánster de Europa del Este comenzaron a producir esta sustancia [6]

Alrededor del año 2000 la International Narcotics Control Board (INCB) e Interpol observaron que se había vuelto a fabricar de manera clandestina Captagon en el sureste de Europa y en la península de Anatolia en concreto en Eslovenia, Bulgaria, Turquía, Serbia y Montenegro y que se almacenaba y traficaba en Turquía, Jordania y Siria. Ya no contenían clorhidrato de Fenetilina debido a la baja disponibilidad de dicha sustancia, sin embargo contienen otras anfetaminas que se pueden producir de manera fácil

y derivados de anfetaminas que son capaces de producir unos efectos parecidos a los que se producían con el uso de la Fenetilina.

Entre las sustancias que incluye el Captagon se puede encontrar anfetaminas, procaína, metanfetaminas, cafeína, efedrina, quinina, metronidazol, teofilina,... [7] al cambiar su composición química ya no se trataría de un medicamento como era en su origen sino que se trataría de una droga producida por la alteración de la fórmula original de la Fenetilina.

En 2007 con la entrada de Bulgaria en la Unión Europea se obligó a que se suspendiera la fabricación de esta sustancia en Bulgaria, lo que desplazó la producción en favor de Oriente Medio, sobre todo hacia Turquía y Líbano. Desde el año 2011 Siria se ha convertido en el mayor productor de Captagon [6].

3. ABSORCIÓN Y METABOLISMO

Normalmente esta droga se suministra por vía oral mediante pastillas (Figura 2) [8] o píldoras, pero se ha probado que en animales, el Captagon inyectado de manera intravenosa, causa convulsiones. Esta sustancia se absorbe de manera rápida y después de una hora alcanza el pico plasmático, teniendo una vida media en el organismo de 1 a 3 horas. Después de la absorción se convierte en anfetamina y teofilina, y estos dos componentes se transfieren al torrente sanguíneo y pueden atravesar la barrera sanguínea del cerebro, convirtiéndose en activo a un nivel central [6].



Fig. 2. Pastillas de Captagon [8]

El metabolismo de la Fenetilina sigue dos vías diferentes, por un lado, se concluye con la formación de anfetaminas y derivados de la misma y por otro lado se obtienen metabolitos de la teofilina, esta vía se basa en dos tipos de N-acetiltransferasas que catalizan la acetilación de la teofilina, en el hígado y en los riñones [6].

4. POSIBLES EFECTOS DEL CAPTAGON

Los efectos que produce la Fenetilina son muy similares a los que producen otros tipos de estimulantes de tipo amfetamínico (ATS). Las anfetaminas en dosis pequeñas causa la elevación de la frecuencia cardíaca, la temperatura corporal, la presión sanguínea y la respiración. Pero a largo plazo puede provocar una serie de efectos secunda-

rios como la depresión, pérdida de sueño, toxicidad del corazón y vasos sanguíneos y desnutrición [9].

En cuanto a la Fenetilina puede provocar una serie de efectos secundarios peligrosos que son incompatibles con estar combatiendo en un conflicto bélico tales como psicosis, distorsiones visuales y alucinaciones, insuficiencia cardíaca aguda, infarto agudo de miocardio (AMI) y ataques epilépticos [4].

Los efectos que los usuarios de este tipo de droga han descrito son la sensación de placer, mayor energía, disminución de la necesidad de comer o dormir, se encuentran en un mayor estado de alerta, con el fin de moderar dichos efectos eufóricos, algunos consumidores de Captagon consumen esta sustancia junto con cannabis y alcohol.

También se ha documentado que las pastillas orales citadas anteriormente y las píldoras, también se puede suministrar de manera intravenosa para producir un efecto más inmediato. Además las píldoras también se pueden convertir en jarabes cuyos efectos secundarios podrían ser úlceras pépticas gástricas y duodenales [4].

5. LO QUE SE ESCONDE DETRÁS DEL CAPTAGON

Hasta ahora se ha realizado un análisis de que es el Captagon, pero detrás de esta droga se mueve un mercado ilícito que aporta ingentes cantidades de dinero. Las píldoras se fabrican con sustancias que cuestan poco pero en el mercado se venden entre 5 y 20 dólares. Las investigaciones que realizaron la revista norteamericana Time y Reuters News Agency han puesto de manifiesto que la venta de Captagon ha supuesto una gran fuente de ingresos económicos en Siria. En el año 2013 se incautaron cerca de 12,3 millones de píldoras de esta sustancia en la frontera de Siria y Líbano y en 2014 se incautaron 29.090.000 píldoras en Dubái y con la aplicación de la Ley Turca, 7 millones de pastillas fueron incautadas entre Siria y Arabia Saudí [7].

El Captagon es utilizado por muchos grupos armados los cuales suministran esta droga a sus combatientes para que lleven a cabo sus atroces actos sintiéndose poderosos, intrépidos y eufóricos. Consumidores de Captagon relatan en un documental de Journeyman.tv que el consumo de esta sustancia produce "gran cantidad de energía, que no se puede dormir o que nunca más podrán cerrar los ojos y que cuando quieren detenerlo, nada lo puede detener, que es realmente bueno" [10]. Esta droga tiene propiedades estimulantes que ofrecen ventajas a estos grupos terroristas durante combates prolongados [7].

6. CONCLUSIONES

El Captagon se ha convertido en la droga de moda entre los terroristas del Medio Oriente, pero el uso de drogas como las anfetaminas en conflictos bélicos no es algo nuevo ya que Alemania, Reino Unido o Estados Unidos ha suministrado este tipo de drogas a sus combatientes para que mejorasen el rendimiento a través de la reducción del cansancio.

Se debería evitar que se financiara el terror a través del

tráfico de drogas, puesto que de esta manera obtienen grandes beneficios con unos costes de producción muy reducidos y gracias a Internet y a los flujos de personas el consumo de dicha sustancia no se circunscribe únicamente a los países del Medio Oriente sino que ha traspasado sus fronteras pudiendo llegar a todos los lugares del planeta, por lo tanto, se tiene que dar una respuesta colectiva a este problema puesto que no se trata solamente de una amenaza para los gobiernos sino también para la sociedad.

REFERENCIAS

- [1] "Captagon: the amphetamine fuelling Syria's civil war" The Guardian, Jon Henley, January 2014,
<https://www.theguardian.com/world/shortcuts/2014/jan/13/captagon-amphetamine-syria-war-middle-east>
- [2] "Captagon, la poderosa droga de los terroristas" Periódico Clarin, Noviembre 2015,
https://www.clarin.com/mundo/Captagon-poderosa-droga-terroristas_0_NkTOZRLXl.html
- [3] "Fenetilina", Wikipedia,
<https://pt.wikipedia.org/wiki/Fenetilina>
- [4] "Captagon: use and trade in the Middle East Ahmed" Al Iman and others, October 2016,
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27766667>
- [5] "¿Captagon?" Revista Cáñamo, Claudio Vidal, Febrero 2016,
<https://canamo.net/otras-drogas/nuevas-sustancias/captagon>
- [6] "Fenethylamine" Ilaria Stirpe and Bruno E. Rossi, June 2015,
<http://flipper.diff.org/apptagsaccount/items/7404>
- [7] "Is Captagon (fenethylamine) helping to fuel the Syrian conflict?" Marie Claire Van Hout and John Wells, January 2016,
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/add.13262/full>
- [8] "Captagon: El Elixir del mal" Revista Resumen Oriente, Guadi Calvo, Diciembre 2015,
<http://www.resumenmedioriente.org/2015/12/04/captagon-el-elixir-del-mal/>
- [9] PubChem, Open Chemistry DataBase: Fenethylamine:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/fenethylamine#section=Top>
- [10] "The Drug Fueling Conflict In Syria", JourneymanPictures, Septiembre 2015,
<https://www.youtube.com/watch?v=7ke13JNlpBQ>



Luna Villar Mateos estudió la enseñanza obligatoria y el bachillerato en el Colegio Internacional Europa (Espaninas). Actualmente estudiante de quinto curso de Derecho y Criminología de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla

La nueva generación de enzimas artificiales: Nanozimas y sus aplicaciones

Begoña Pérez Rojo, Irene Molina Panadero

Resumen — En los últimos años, los investigadores se han planteado un reto interesante y desafiante a partes iguales. Se sabe que tanto las proteínas como las nanopartículas presentan ciertas similitudes, y esto podría dar lugar al desarrollo de nanopartículas con la capacidad de imitar algunas funciones catalíticas de las enzimas, es aquí donde se acuña el concepto de "nanozima". Este nuevo tipo de enzimas artificiales podrían suplir las carencias propias de las enzimas naturales y abrir todo un abanico de posibilidades y aplicaciones en el mundo de la biotecnología gracias a sus singulares propiedades. En este artículo se revisarán las características más básicas de las nanozimas y sus aplicaciones más prometedoras en el ámbito de la biotecnología y biomedicina.

Palabras Claves — Aplicaciones Sanitarias, Biomedicina, Biotecnología, Nanopartícula, Nanozima.

1. INTRODUCCIÓN

Las enzimas naturales presentan una serie de limitaciones intrínsecas, tales como su alto coste, baja estabilidad o dificultad de almacenamiento. Esto ha estimulado la aparición y desarrollo de una serie de "imitadores enzimáticos" o "enzimas artificiales", dentro de las cuales encontramos a las "nanozimas", que se definen como nanomateriales con características similares a las enzimas [1]. Desde que Gal *et al.* (2007) [2] descubrieran de forma inesperada nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 con actividades similares a la peroxidasa, las nanozimas son consideradas potencialmente como la nueva generación de imitadores enzimáticos. Dadas sus propiedades únicas, en comparación con las enzimas naturales y las enzimas artificiales clásicas, las nanozimas se han convertido en un área de investigación emergente y han despertado un gran interés entre la comunidad científica. Además, sus propiedades no solo las dotan de una amplia funcionalidad sino que, además, les brindan posibilidades de diseño racional y prometedoras aplicaciones en el área de la biotecnología [1].

2. OBTENCIÓN, REGULACIÓN Y SELECTIVIDAD

Una de las prioridades para hacer de las nanozimas una mejor alternativa a las enzimas naturales, es diseñar su actividad y favorecer su selectividad. Respecto al tamaño, cuanto más pequeño sea el nanomaterial, mayor será su capacidad catalítica ya que presentará una mayor relación superficie/volumen, exponiendo más sitios activos. Tendiendo en cuenta que la mayoría de las reacciones tienen lugar en la superficie de las nanozimas, un recubrimiento adicional en las mismas tendría efecto sobre sus actividades, debido al cambio de carga superficial y a la exposición de sitios activos. De forma general, dicho revestimiento protegería los sitios activos y, por lo tanto, disminuiría las actividades catalíticas, sin embargo, en algunos casos, se ha demostrado que mejoran dicha actividad [1]. La actividad de las nanozimas depende normalmente del pH y la temperatura, al igual que las enzi-

mas naturales. Por ejemplo, condiciones ácidas en nanozimas de hierro o carbono, son propicias para una actividad que imita a la peroxidasa, mientras que un pH neutro o alcalino, promueve propiedades similares a la superóxido dismutasa (SOD) y catalasa en nanozimas metálicas [3].

3. TIPOS DE NANOZIMAS

Existen una gran variedad de nanomateriales con actividades enzimáticas, donde se incluyen tanto reacciones redox como hidrólisis. En la Tabla 1 se resumen los tipos más representativos de nanomateriales para las reacciones enzimáticas más comunes.

TABLA 1
TIPOS DE NANOZIMAS Y EJEMPLOS [1].

Actividad que imitan	Ejemplos
Peroxidasa	Nanozimas basadas en hierro (Fe), vanadio (Vd) o carbono (C)
Oxidasa	Nanopartículas de oro (Au), cobre (Cu), platino (Pt) o trióxido de molibdeno (MoO_3)
Catalasa	Nanomateriales tales como metales u óxidos metálicos
Superóxido dismutasa	Nanozimas basadas en carbón (C), cerio (Ce) y melanina
Hidrolasas	Nanozimas basadas en carbón (C) y monocapas funcionalizadas en base a nanopartículas de oro (Au)

4. APLICACIONES

4.1. Aplicaciones *in vitro*

4.1.1. Detección de H_2O_2 y glucosa

La detección de H_2O_2 se fundamenta en el monitoreo del cambio de señal de un sustrato que es oxidado por H_2O_2 , mediante el uso de nanozimas con actividades imitadoras de la peroxidasa, como, por ejemplo, el Fe_3O_4 .

Gracias a la existencia de diferentes tipos de sustratos, podrían diseñarse diversos ensayos basados en técnicas como la colorimetría, fluorescencia o señales electroquímicas y Raman. La existencia de sustratos capaces de oxidarse y generar H_2O_2 mediante sus respectivas oxidasas, combinado con la capacidad de detectar H_2O_2 , permite poner de manifiesto diversos sustratos de la oxidasa, entre ellos la glucosa [1]. Por ejemplo, *Nantaphol et al. (2017)* [4] han desarrollado un método colorimétrico que permite detectar glucosa mediante el uso de nanopartículas de oro (Au) y platino (Pt), con un límite de detección de 8,5 mM.

4.1.2. Detección de ácidos nucleicos y proteínas

Existen dos métodos principales para la detección de ácidos nucleicos. El primer tipo consiste en el uso de nanozimas como marcadores para etiquetar ácidos nucleicos. Un ejemplo de ello serían las nanozimas de Fe_2O_3 modificadas con el anticuerpo 5-metilcitosina, las cuales pueden ser capaces de reconocer específicamente los grupos metilcitosina en el ADN [5]. El segundo tipo consiste en el ajuste de la actividad de las nanozimas, tal es el caso del método colorimétrico desarrollado por *Kim et al. (2014)* [6], basado en el acoplamiento de nanopartículas de CeO_2 que imitan la actividad oxidasa junto con la tecnología de la PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Esta técnica se basa en el uso de sustratos incoloros que, en ausencia de ADN, se oxidarían, pasando a azul oscuro. En presencia de ADN amplificado por PCR la actividad de estas nanopartículas se inhibe, manteniendo la coloración incolora. En cuanto a la detección de proteínas, la tecnología más utilizada es el inmunoensayo, ya que aprovecha el reconocimiento específico entre antígeno y anticuerpo. Se han publicado varios estudios con nanozimas en los que se detectaron proteínas mediante el uso de nanopartículas de Fe_3O_4 o cubos de paladio (Pd) e iridio (Ir), imitadores de la actividad peroxidasa [2].

4.1.3. Detección de células (marcadores de cáncer en la superficie celular)

Existen plataformas de detección de células tumorales circulantes (CTC) con nanopartículas Fe_3O_4 , las cuales fueron modificadas por anticuerpos anti-melanoma. Además, se han desarrollado nanocompuestos de platino (Pt) modificado con ácido fólico/óxido de grafeno que permiten detectar células cancerosas específicas [1].

4.2. Aplicaciones *in vivo*

En un estudio, *Chen et al. (2016)* [11] consiguieron desarrollar, mediante microdiálisis *in vivo*, una placa de detección de glucosa cerebral, para ello se mezclaron las muestras de microdiálisis con glucosa oxidasa y sustratos de peroxidasa, generándose las señales correspondientes a los productos catalizados por las nanozimas. Estos mismos autores también desarrollaron otra nanozima que permitió la detección de analitos por señales Raman, basadas en nanopartículas de oro (Au) que imitaban a la peroxidasa.

4.3. Imagen

Las propiedades intrínsecas de las nanozimas permiten que estas puedan ser monitoreadas mediante imágenes de resonancia magnética, tomografía computarizada o imágenes ópticas. Adicionalmente, podrían generar diferentes productos coloreados o fluorescentes útiles para el diagnóstico por imagen. Un ejemplo de ello fue la obtención de nanopartículas de magnetoferritina con actividad peroxidasa capaces de dirigirse al tejido tumoral a través de receptores de transferrina sobreexpresados en la superficie de las células tumorales. Estas nanopartículas catalizaban la oxidación de un sustrato de peroxidasa, con el fin de generar un producto coloreado que permitía visualizar los tumores [12].

4.4. Aplicaciones terapéuticas

4.4.1. Neuroprotección

El Parkinson es una enfermedad neurodegenerativa que afecta al sistema nervioso central. En monos *Macaca fascicularis* se indujo dicha enfermedad y fue tratada con nanozimas durante dos meses, concretamente con $C_{60}-C_3$, imitadora de la actividad SOD. Para evaluar la eficacia del tratamiento se analizaron principalmente las funciones motoras y los niveles de dopamina. Como resultado se observó una reducción en las lesiones del cuerpo estriado y una mejora de la función motora, además de ausencia de toxicidad [13]. Cabe destacar la importancia de las especies reactivas de oxígeno (ROS) en esta enfermedad, ya que su disminución gracias a $C_{60}-C_3$ mostró una mejora en el cuerpo estriado de los ratones usados en el experimento [7]. Un estudio de *Kwon et al. (2018)* [8] demostró que nanozimas de nanocerio conjugado con trifosfonio (TPP-nanocerio) tenían la capacidad de eliminar las ROS, protegiendo las mitocondrias del estrés oxidativo durante el Alzheimer. Esta mejora se produjo gracias a que dichas nanozimas disminuyen la gliosis reactiva y el daño en las mitocondrias producido por dicha enfermedad. Las nanozimas de Mn_3O_4 podrían proporcionar efectos neuroprotectores para las células, demostrando su potencial para tratar los trastornos neurodegenerativos mediados por ROS [9].

4.4.2. Terapia contra el cáncer

La producción de ROS puede dañar a las células cancerosas. De acuerdo con las diferentes formas de generación de ROS, en la terapia contra el cáncer se pueden clasificar dos tipos de nanozimas: (i) las que tienen actividad similar a peroxidasa u oxidasa con producción de ROS; (ii) o actividad catalasa, con ROS producidas por irradiación con luz y donde las nanozimas generan O_2 . En cuanto al primer tipo, en la Figura 1 se puede observar el funcionamiento de las $GOx-Fe_3O_4@DMSNs$, nanozimas fabricadas mediante el encapsulado de glucosa oxidasa y nanopartículas Fe_3O_4 . Cuando la nanozima es absorbida por la célula cancerosa se produce un agotamiento de la glucosa, lo que provoca la privación de alimento a la célula, además de la producción de ROS. Esta acumulación induce apoptosis y muerte de la célula tumoral [10].

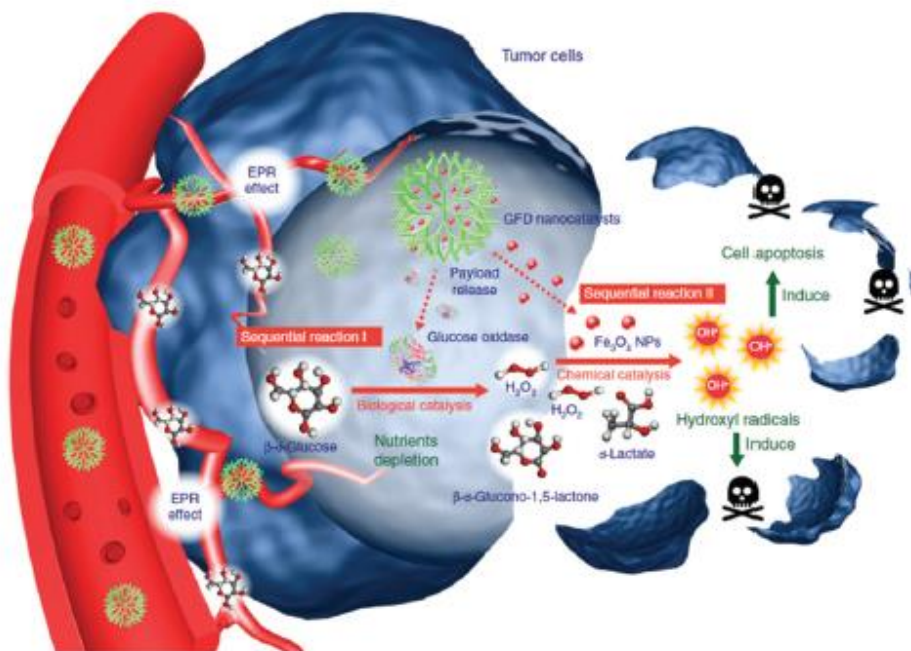


Fig 1. Mecanismo catalítico de las nanozimas en tumores [1].

Con respecto al segundo tipo, las nanozimas imitadoras de la actividad catalasa se han aplicado en terapia fotodinámica. En esta terapia, el O_2 se convierte en ROS por la presencia de fotosensibilizadores que se activan con luz. Sin embargo, el uso de esta terapia se ve frecuentemente limitado por el ambiente hipóxico de la células tumorales. El uso de nanozimas imitadoras de la actividad catalasa en la terapia fotodinámica permitiría decomponer el H_2O_2 en O_2 , aumentando la concentración de O_2 en el ambiente de la célula tumoral y con ello, incrementando la eficacia de dicha terapia. Un ejemplo de estas nanozimas serían las nanozimas de sílice ancladas con ferrita de manganeso [14]. Como se puede observar en la Figura 2, el O_2 generado de forma continua a partir de dicha nanozima y los ROS, bajo irradiación con láser, aliviaría el microambiente hipóxico del cáncer, mejorando la eficacia terapéutica.

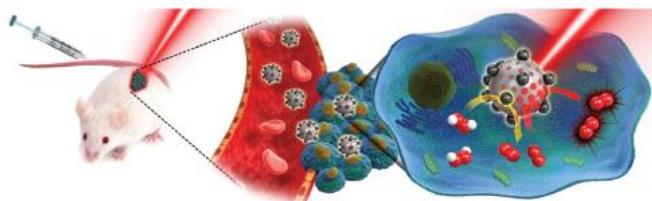


Fig 2. Terapia fotodinámica con ayuda de nanozimas [1].

5. NANOZIMAS VS ENZIMAS NATURALES

En comparación con las enzimas naturales, las nanozimas presentan varias ventajas como bajo coste, fácil producción a gran escala, resistencia en ambientes hostiles, gran estabilidad, almacenamiento a largo plazo y actividad dependiente de la composición. Además, las nanozimas también han mostrado propiedades únicas en comparación con otras enzimas artificiales en cuanto a

sus actividades catalíticas dependientes del tamaño (forma, estructura, composición), múltiples funciones integradas además de la catálisis, gran área superficial para modificaciones adicionales, bioconjugación, respuesta inteligente a estímulos externos y capacidad de autoensamblaje, entre otros. [1].

6. CONCLUSIONES

Existen más aplicaciones de las nanozimas, por ejemplo, como agentes antiinflamatorios o antibacterianos, gracias a su capacidad de producir ROS. A pesar del gran potencial de las nanozimas, es necesario estudiar con más profundidad sus actividades catalíticas para conocer de manera exacta su mecanismo de acción. Adicionalmente, deberán solventarse algunos problemas, como su baja especificidad de sustrato en comparación con las enzimas naturales. No obstante, se espera que en un futuro se descubran aplicaciones más prometedoras, como la detección de drogas, dispositivos biomédicos o aplicaciones en células madre, lo que hará de las nanozimas una potente herramienta en una amplia variedad de áreas de la biotecnológica.

REFERENCIAS

- [1] Wu, J., Wang, X., Wang, Q., Lou, Z., Li, S., Zhu, Y., Qin, L., and Wei, H. (2019). Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes (II). *Chemical Society Reviews*, 48(4), 1004-1076.
- [2] Gao, L., Zhuang, J., Nie, L., Zhang, J., Zhang, Y., Gu, N., Wang, T., Feng, J., Yang, D., Perrett, S., and Yan, X. (2007). Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. *Nature nanotechnology*, 2(9), 577-583.
- [3] Chen, T. M., Tian, X. M., Huang, L., Xiao, J., and Yang, G. W. (2017). Nanodiamonds as pH-switchable oxidation and reduction catalysts with enzyme-like activities for immunoassay and antioxidant applications. *Nanoscale*, 9(40), 15673-15684.

- [4] Nantaphol, S., Watanabe, T., Nomura, N., Siangproh, W., Chailapakul, O., and Einaga, Y. (2017). Bimetallic Pt-Au nanocatalysts electrochemically deposited on boron-doped diamond electrodes for nonenzymatic glucose detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 98, 76-82.
- [5] Ling, P., Lei, J., Zhang, L., and Ju, H. (2015). Porphyrin-encapsulated metal-organic frameworks as mimetic catalysts for electrochemical DNA sensing via allosteric switch of hairpin DNA. *Analytical chemistry*, 87(7), 3957-3963.
- [6] Kim, M. I., Park, K. S., and Park, H. G. (2014). Ultrafast colorimetric detection of nucleic acids based on the inhibition of the oxidase activity of cerium oxide nanoparticles. *Chemical Communications*, 50(67), 9577-9580.
- [7] Kwon, H. J., Kim, D., Seo, K., Kim, Y. G., Han, S. I., Kang, T., Hyeon, T., et al. (2018). Ceria nanoparticle systems for selective scavenging of mitochondrial, intracellular, and extracellular reactive oxygen species in Parkinson's disease. *Angewandte Chemie International Edition*, 57(30), 9408-9412.
- [8] Kwon, H. J., Cha, M. Y., Kim, D., Kim, D. K., Soh, M., Shin, K., Mook-Jung, I., et al. (2016). Mitochondria-targeting ceria nanoparticles as antioxidants for Alzheimer's disease. *ACS nano*, 10(2), 2860-2870.
- [9] Singh, N., Savanur, M. A., Srivastava, S., D'Silva, P., and Magesh, G. (2017). A redox modulatory Mn₃O₄ nanozyme with multi-enzyme activity provides efficient cytoprotection to human cells in a Parkinson's disease model. *Angewandte Chemie International Edition*, 56(45), 14267-14271.
- [10] Huo, M., Wang, L., Chen, Y., and Shi, J. (2017). Tumor-selective catalytic nanomedicine by nanocatalyst delivery. *Nature communications*, 8(1), 1-12.
- [11] Cheng, H., Zhang, L., He, J., Guo, W., Zhou, Z., Zhang, X., Wei, H., et al. (2016). Integrated nanozymes with nanoscale proximity for in vivo neurochemical monitoring in living brains. *Analytical chemistry*, 88(10), 5489-5497.
- [12] Fan, K., Cao, C., Pan, Y., Lu, D., Yang, D., Feng, J., Yan, X., et al. (2012). Magnetoferritin nanoparticles for targeting and visualizing tumour tissues. *Nature nanotechnology*, 7(7), 459-464.
- [13] Dugan, L. L., Tian, L., Quick, K. L., Hardt, J. I., Karimi, M., Brown, C. and Tabbal, S. D. (2014). Carboxyfullerene neuroprotection postinjury in Parkinsonian nonhuman primates. *Annals of neurology*, 76(3), 393-402.
- [14] Kim, J., Cho, H. R., Jeon, H., Kim, D., Song, C., Lee, N., Hyeon, T., et al. (2017). Continuous O₂-evolving MnFe₂O₄ nanoparticle-anchored mesoporous silica nanoparticles for efficient photodynamic therapy in hypoxic cancer. *Journal of the American Chemical Society*, 139(32), 10992-10995.



Begoña Pérez Rojo graduada en Biología por la Universidad de Granada en 2019. Actualmente está cursando el Máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide.



Irene Molina Panadero graduada en Biotecnología por la Universidad de Almería en 2019. Actualmente está cursando el Máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide.