MOLEQLA

nº 39

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 Biotecnología: Cristina Guillén Mendoza
MoleQla Instituto: Almudena García Sanchez
***MoleQla Nanotecnología*:** Ana Paula Zaderenko Partida
MoleQla Ambiental: Ana Martín Calvo
***MoleQla Química*:** Patrick J. Merkling
***MoleQla Farmacia*:** Matilde Revuelta González
MoleQla Informática: Norberto Díaz Díaz
MoleQla Patrimonio: María Pilar Ortiz Calderón

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. Merkling

ISSN 2173-0903
Editado el 21 de octubre de 2020
Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

Bienvenidos a este nuevo número de MoleQla. La clave de este número de otoño radica en la diversidad dentro del elemento unificador de la Ciencia. Diversidad en los autores, que son estudiantes, entre otros, de grado, máster y doctorado. A este respecto destacamos, por ejemplo, un artículo en la sección "MoleQla Instituto". En este artículo la autora, que estaba cursando el instituto a la hora de redactar su contribución, nos informa sobre las consecuencias de la temperatura (con trasfondo de cambio climático) sobre la capacidad de la zanahoria de incorporar agua a sus tejidos. También destaca en este número la diversidad en cuanto al tipo de artículo. Tradicionalmente (vamos ya por el número 39), MoleQla publica ante todo artículos divulgativos, no obstante, en este número, contamos también con artículos de revisión y artículos de investigación. En estos artículos se tratan temas muy diversos, como el análisis de figuras precolombinas de la costa de Ecuador, para determinar su composición, o la presentación de una técnica para calcular las líneas de campo eléctrico en materiales. Esta técnica es de gran utilidad, por ejemplo, para saber cómo se distribuyen ciertas moléculas e iones dentro de materiales porosos en los que se quiere almacenar, y para optimizar su empaquetamiento. En cuanto al artículo destacado de revisión, en él aprenderemos cosas muy interesantes sobre una proteína cuyo papel es clave en el crecimiento y la muerte celular controlada, lo que la hace una diana muy interesante en tratamientos contra el cáncer.

Los temas médicos son siempre un punto fuerte de nuestra revista, que en esta edición cuenta con artículos sobre el papel que las nanopartículas pueden jugar en la lucha contra los virus y, en particular, contra el SARS-Cov-2, o los avances en tratamientos contra enfermedades como el lupus eritematoso, la leucemia mieloide aguda o la enfermedad de Lafora. Salud y medioambiente se conjugan en varios artículos de este número que nos muestran, por ejemplo, los efectos de los hidrocarburos aromáticos polinucleares que se generan al quemar la madera, los bioindicadores de la contaminación atmosférica o las recientes investigaciones sobre radiactividad ambiental en aguas, atmósfera y suelos.

Finalmente, aquellos más interesados en la informática encontrarán en este número artículos que repasan el principio de la criptografía, tecnología en la que todos confiamos para que nuestros datos viajen seguros por internet, los principales sistemas operativos para dispositivos inteligentes, o la forma de realizar animaciones para películas y videojuegos.

Feliz lectura,

Ana Paula Zaderenko

ÍNDICE

1. Moleqla Biotecnología

1.1. Histone Deacetylase 3 Protein: towards a unified structural-functional approach

2. Moleqla Instituto

2.1. Efecto de la temperatura del agua en la tasa de ósmosis de Daucus carota

3. Moleqla Nanotecnología

3.1. Nanopartículas como antivirales: ¿un paso más en la lucha contra los virus?

3.2. Las nanopartículas en la lucha frente al COVID-19

3.3. Uso de nanopartículas en el tratamiento del lupus eritematoso sistémico

4. Moleqla Ambiental

4.1. La radiactividad ambiental. Algunos ejemplos en las esferas de la Tierra

4.2. Causas antropogénicas del bleaching del coral

4.3. Bioindicadores de la contaminación atmosférica

5. Moleqla Química

5.1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos y sus efectos

5.2. EosFiLiC: Calculo de las líneas de campo electrostatico en el interior de estructuras periódicas

6. Moleqla Farmacia

6.1. Metilfenidato en el tratamiento del trastorno por déficit de atención e hiperactividad

6.2. Xospata, nuevo fármaco huérfano

6.3. Enfermedad de Lafora

7. Moleqla Informática

7.1. ¿Qué es la animación y cuál es el papel del programador en ella?

7.2. Evolución y comparación de los sistemas operativos en dispositivos inteligentes

7.3. Criptografía y seguridad informática

8. Moleqla Patrimonio

8.1. El color del desarrollo regional de la costa ecuatoriana. Estudio por DRX y SEM-EDS

Histone Deacetylase 3 Protein: towards a unified structural-functional approach

Leyla M. Sánchez-Palancar

Abstract— The inhibition procedure of histone deacetylase 3 (HDAC3) has been intensively studied because of the important roles that this protein plays in the regulation of gene expression, epigenetic repression, transcription, replication, recombination, and repair. HDAC3 is required for the proper balance of acetylation/deacetylation dynamics of genes, and it is involved in cell growth and the apoptotic process of all cell types via the regulation of pro-apoptotic genes. The overexpression of HDAC3 protein might lead to uncontrolled cell proliferation and inhibition of both differentiation and apoptosis. Therefore, downregulating HDAC3 seems to be critical for the treatment of a wide range of diseases, with special emphasis on cancer. In the present work, the main structural-functional characteristics of HDAC3 are exhaustively described. A first feature set consisted of the nucleotide sequence and from the primary to the quaternary structures of HDAC3. The knowledge of the conformations and coupling of this protein in different complexes determines the functionality of HDAC3. Therefore, a second feature set was defined to elucidate the interactions, ligands, homologies, and functions of HDAC3. Summarizing most of the characteristics of HDAC3 into a single structural-functional approach, including histone deacetylase inhibitors (HDIs) to regulate its overexpression as a possible practical application, is the key contribution of this review.

Keywords— HDAC3, nuclear receptor co-repressor (NCOR/SMRT), deacetylation, HDI, inositol tetraphosphate (IP4), cancer.

1. Introduction

Histone deacetylases (HDACs) are part of an extensive family of enzymes that have crucial roles in numerous biological processes, largely through their repressive influence on transcription, cell differentiation, apoptosis, and survival. Transcriptional control occurs through regulators that bind specific DNA sequences, leading to the histone acetylation/deacetylation modifications in chromatin structure. The state of amino acid residues within histone tails is the main factor influencing chromatin structure. Histone tails serve as targets for a variety of reversible post-translational modifications that modulate nucleosome structure and gene transcription, both positively and negatively. Acetylation and deacetylation, which are the most widespread modifications of histones, provide a mechanism for coupling extracellular signals with the genome [1].

The HDAC superfamily is wide and ancient, dating back to prokaryotes. This superfamily is divided into four families (class I, IIa, IIb and IV), classified by their differences in structure, enzymatic function, subcellular localization, and expression patterns. Additionally, mammalian genomes encode another group referred to as class III HDACs or sirtuins. Class I HDAC family involves zinc-dependent enzymes and consists of HDAC1, 2, 3 (or RPD3), and 8. These enzymes possess the conserved deacetylase domain. Class I HDACs are widely expressed in organisms, whereas HDACs of other classes are tissue-specific [1].

From the structural point of view, HDAC3 protein is 428 amino acids long. Although other class I HDACs are found mainly in the nucleus of the different cells, HDAC3 is located in both the nucleus, the cytoplasm as well as at the plasma membrane. The HDAC3 gene in humans is located in chromosome 5 [2]. The main function of HDAC3 resides in its catalytic activity, in which HDAC3 removes acetyl groups from N(6)-acetyl-lysine residues on a histone, resulting in chromatin condensation. HDAC3 is overexpressed in some tumors including leukemia, colon cancer, lung, and maxillary carcinoma, among others. Thus, inhibitors precisely targeting HDAC3 could be therapeutic drug options [3]. In the present study, the most important structural-functional characteristics of HDAC3 are reviewed and exhaustively described, paying special attention to HDAC3's nucleotide sequence, its structures from primary to quaternary, the main interactions with other proteins, the different types of ligands, its homologies with other proteins in different organisms, and its most relevant functions.

2. Results

2.1. Nucleotide Sequence

The HDAC3 gene is located in chromosome 5 (location 5q31.3) of Homo Sapiens and the mRNA transcribed from it is between 1920 [4] and 1934 nucleotides long (different untranslated region length according to different sources, so the 3′ end is filled with adenine) [5], [6]. However, the coding region is constant and consists of 1287 nucleotides (from 23 to 1309 with 1920 nucleotides), (see Fig. 1).

The HDAC3 gene spans 15.97 kilobases (kb) of genomic sequence on chromosome 5 (in minus-strand orientation). It consists of 15 exons and 14 introns in between (see Fig. 2). Alternative splicing is the process by which different regions of exons and introns are joined to produce mature mRNA transcripts, which often lead to unique proteins or isoforms [7].

Leyla M. Sánchez-Palancar. Faculty of Experimental Sciences (Degree in Biotechnology). Universidad Pablo de Olavide. lmsanpal@alu.upo.es.

```
ORIGIN
   1 GGGGCCTGCT CCCGCCGGCA CCATGGCCAA GACCGTGGCC TATTTCTACG ACCCCGACGT
  61 GGGCAACTTC CACTACGGAG CTGGACACCC TATGAAGCCT CATCGCCTGG CATTGACCCA
 121 TAGCCTGGTC CTGCATTACG GTCTCTATAA GAAGATGATC GTCTTCAAGC CATACCAGGC
 181 CTCCCAGCAT GACATGTGCC GCTTCCACTC CGAGGACTAC ATTGACTTCC TGCAGAGAGT
 241 CAGCCCCACC AATATGCAAG GCTTCACCAA GAGTCTTAAT GCCTTCAACG TAGGCGATGA
 301 CTGCCCAGTG TTTCCCGGGC TCTTTGAGTT CTGCTCGCGT TACACAGGCG CATCTCTGCA
 361 AGGAGCAACC CAGCTGAACA ACAAGATCTG TGATATTGCC ATTAACTGGG CTGGTGGTCT
 421 GCACCATGCC AAGAAGTTTG AGGCCTCTGG CTTCTGCTAT GTCAACGACA TTGTGATTGG
 481 CATCCTGGAG CTGCTCAAGT ACCACCCTCG GGTGCTCTAC ATTGACATTG ACATCCACCA
 541 TGGTGACGGG GTTCAAGAAG CTTTCTACCT CACTGACCGG GTCATGACGG TGTCCTTCCA
 601 CAAATACGGA AATTACTTCT TCCCTGGCAC AGGTGACATG TATGAAGTCG GGGCAGAGAG
 661 TGGCCGCTAC TACTGTCTGA ACGTGCCCCT GCGGGATGGC ATTGATGACC AGAGTTACAA
 721 GCACCTTTTC CAGCCGGTTA TCAACCAGGT AGTGGACTTC TACCAACCCA CGTGCATTGT
 781 GCTCCAGTGT GGAGCTGACT CTCTGGGCTG TGATCGATTG GGCTGCTTTA ACCTCAGCAT
 841 CCGAGGGCAT GGGGAATGCG TTGAATATGT CAAGAGCTTC AATATCCCTC TACTCGTGCT
 901 GGGTGGTGGT GGTTATACTG TCCGAAATGT TGCCCGCTGC TGGACATATG AGACATCGCT
 961 GCTGGTAGAA GAGGCCATTA GTGAGGAGCT TCCCTATAGT GAATACTTCG AGTACTTTGC
1021 CCCAGACTTC ACACTTCATC CAGATGTCAG CACCCGCATC GAGAATCAGA ACTCACGCCA
1081 GTATCTGGAC CAGATCCGCC AGACAATCTT TGAAAACCTG AAGATGCTGA ACCATGCACC
1141 TAGTGTCCAG ATTCATGACG TGCCTGCAGA CCTCCTGACC TATGACAGGA CTGATGAGGC
1201 TGATGCAGAG GAGAGGGGTC CTGAGGAGAA CTATAGCAGG CCAGAGGCAC CCAATGAGTT
1261 CTATGATGGA GACCATGACA ATGACAAGGA AAGCGATGTG GAGATTTAAG AGTGGCTTGG
1321 GATGCTGTGT CCCAAGGAAT TTCTTTTCAC CTCTTGGTTG GGCTGGAGGG AAAAGGAGTG
1381 GCTCCTAGAG TCCTGGGGGT CACCCCAGGG CTTTTGCTGA CTCTGGGAAA GAGTCTGGAG
1441 ACCACATTTG GTTCTCGAAC CATCTACCTG CTTTTCCTCT CTCTCCCAAG GCCTGACAAT
1501 GGTACCTATT AGGGATGAGA TACAGACAAG GATAGCTATC TGGGACATTA TTGGCAGTGG
1561 GCCCTGGAGG CCAGTCCCTA GCCCCCCTTG CCCCTTATTT CTTCCCTGCT TCCCTCGAAC
1621 CCAGAGATTT TTGAGGGATG AACGGGTAGA CAAGGACTGA GATTGCCTCT GACTTCCTCC
1681 TCCCCTGGGT TCTGACTTCT TCCTCCCCTT GCTTCCAGGG AAGATGAAGA GAGAGAGATT
1741 TGGAAGGGGC TCTGGCTCCC TAACACCTGA ATCCCAGATG ATGGGAAGTA TGTTTTCAAG
1801 TGTGGGGAGG ATATGAAAAT GTTCTGTTCT CACTTTTGGC TTTATGTCCA TTTTACCACT
1861 GTTTTTATCC AATAAACTAA GTCGGTATTT TTTTGTAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

Legend: CDS (coding region)
```

Fig. 1. Nucleotide Sequence of the HDAC3 gene. In green it is shown the coding sequence of the gene that will be translated into a protein. Data collected and modified from: [4], [5], [6].

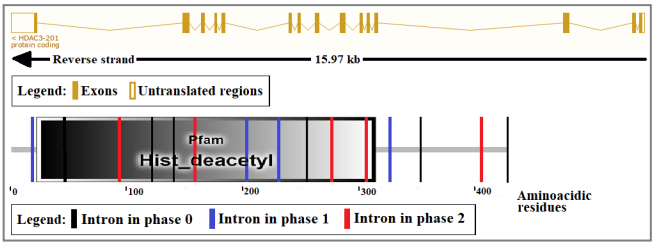


Fig. 2. Exons and introns along the HDAC3 gene. In the top image, the exons are marked (see color coding in the legend) throughout the reverse strand (marked with an arrow). In the bottom image, introns are marked (see color coding in the legend) along aminoacidic residues (from 0 to 428, amino to carboxy). Data collected and modified from: [5], [8].

2.2. Primary Structure and Isoforms

HDAC3 is a protein that consists of 428 amino acids, its aminoacidic sequence is illustrated below (see Fig. 3).

```
ORIGIN
  1 MAKTVAYFYD PDVGNFHYGA GHPMKPHRLA LTHSLVLHYG LYKKMIVFKP YQASQHDMCR
 61 FHSEDYIDFL QRVSPTNMQG FTKSLNAFNV GDDCPVFPGL FEFCSRYTGA SLQGATQLNN
121 KICDIAINWA GGLHHAKKFE ASGFCYVNDI VIGILELLKY HPRVLYIDID IHHGDGVQEA
181 FYLTDRVMTV SFHKYGNYFF PGTGDMYEVG AESGRYYCLN VPLRDGIDDQ SYKHLFQPVI
241 NQVVDFYQPT CIVLQCGADS LGCDRLGCFN LSIRGHGECV EYVKSFNIPL LVLGGGGYTV
301 RNVARCWTYE TSLLVEEAIS EELPYSEYFE YFAPDFTLHP DVSTRIENQN SRQYLDQIRQ
361 TIFENLKMLN HAPSVQIHDV PADLLTYDRT DEADAEERGP EENYSRPEAP NEFYDGDHDN
421 DKESDVEI
```

Fig. 3. Aminoacidic sequence of the HDAC3 protein. Data collected from: [4], [9].

There are two described isoforms of HDAC3 resulting from alternative splicing of the mRNA in the 5' region [2]. Isoform 1 has a length of 428 amino acids, a mass of 48848 Daltons (Da), and an isoelectric point (pI) of 4.98. On the other hand, Isoform 2 is 429 amino acids long, has a mass of 49111 Da and a pI of 5.11. The aminoacidic sequence of isoform 2 differs from the sequence of isoform 1 (canonical) as follows: 1-15 (5′ to 3′): MAKTVAYFYDPDVGN → MIVFKPYQASQHDMCRFHY (see Fig. 4).

```
O15379    HDAC3_HUMAN   1   MA-KTVAYFYDPDVGNFHY
O15379-2  HDAC3_HUMAN   1   MIVFKPYQASQHDMCRFHY
                            *    .      : *:  .***
```

Fig. 4. Alignment of Isoforms 1 & 2 of HDAC3. In green are shown the differences in the aminoacidic sequence of isoform 1 (top) compared to that of isoform 2 (bottom); from 5' to 3' (left to right). Data collected and modified form: [10].

2.2.1. Post-translational modifications

Post-translational modification (PTM) is a term that entails dynamic modification of proteins after their translation. PTMs are not only involved in homeostasis but also pathologic conditions and diverse diseases. Histone deacetylases (HDACs), which are known to act as transcriptional regulators, are one example of post-translational modifiers with diverse roles in human physiology and diseases. Since they cause the deacetylation of histones, the regulation and inhibition of HDACs might be beneficial for the treatment of certain diseases. Class I HDACs have greater enzymatic activity than the other classes of HDACs and target various non-histone proteins as well as the histone-core complex [11]. Class I HDACs, in which HDAC3 is included, not only regulate PTMs in histones and other proteins, but they also undergo post-translational modifications such as phosphorylation and ubiquitination (see Fig. 5), sumoylation, and S-nitrosylation [8], [12].

The activity of HDAC3 is regulated by the phosphorylation of the Ser424 residue of the protein (Fig. 5) by Casein Kinase 2 and the same residue is dephosphorylated by protein serine/threonine phosphatase 4 (PP4). It is also possible to indirectly regulate the activity of HDAC3 by post-translational modification of its associated proteins [2]. HDAC3 can also be sumoylated *in vitro* [4], [13].

The most relevant post-translational modifications that HDAC3 undergo are present in both isoforms of the protein and are located at the same sites, which indicates that these post-translational modifications have specific purposes and functions in regulating the activity of the protein and the correct functioning of genes and proteins.

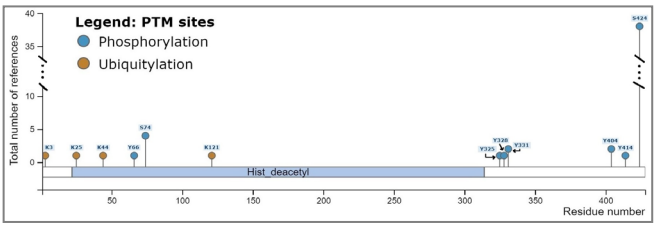


Fig. 5. Most relevant post-translational modifications of HDAC3. The graph represents the different PTMs along the HDAC3 aminoacidic sequence. The y-axis is the total number of references of HDAC3 and the x-axis shows the residue number. In the top-left of the figure the legend describes the color coding for the different PTMs. Data collected and modified from: [14].

2.3. Secondary Structure

The secondary structure of HDAC3 consists of alpha (α)-helixes and beta (β)-sheets linked by connecting segments and β-turns (see Fig. 6).

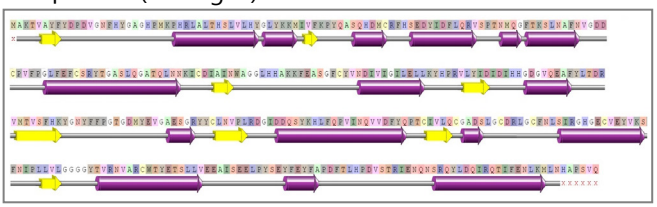


Fig. 6. Secondary structure of HDAC3. The aminoacidic sequence is represented from the amino to the carboxy terminal, showing the corresponding secondary structure below each region. β-sheets (yellow/rectangular arrows); α-helixes (purple/cylindrical arrows). Data collected and modified from: [15].

2.3.1. Supersecondary Structures (Motifs)

The main supersecondary structures or motifs that are present in HDAC3 are of α-β Class and α-β-α Sandwich Architecture, their Topology is that of Arginase and they are conserved in the HDAC domain superfamily (see Fig. 7).

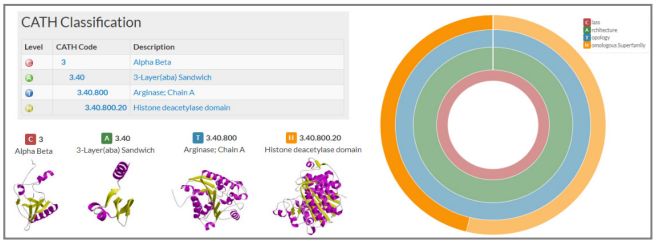


Fig. 7. CATH (Class, Architecture, Topology, Homologous Superfamily) classification of the main Supersecondary structures and domains of HDAC3. The chart and representations in the left refer to the Supersecondary structures and domains of HDAC3, color coded in the sunburst graph in the right. Data collected from: [16].

2.3.2. Domains

Class I HDACs possess simple structures, consisting of the conserved deacetylase domain with short amino- and carboxy-terminal extensions. As mentioned in the Supersecondary structures section (Fig. 7), the Arginase topology of the histone deacetylase domain is characteristic of HDAC3 as well as the rest of the HDACs and it consists of a 3-layer (α-β-α) sandwich. This domain spans throughout the majority of the HDAC3 chain (see Fig. 8), acting as the main structural and functional unit of the HDAC3 protein.

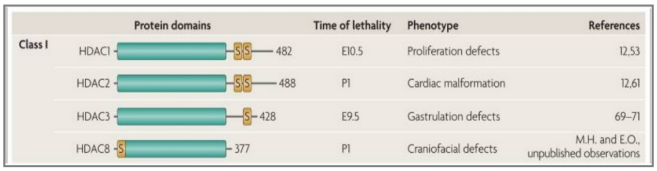


Fig. 8. Protein domains of the histone deacetylase (HDAC) superfamily, only Class I HDACs showing. The green rectangles (left) indicate the conserved HDAC domain; numbers following the HDAC domain indicate the number of amino acids in each class I HDAC; S represents serine phosphorylation sites. Data collected from: [1].

Depending on the references of each database, the domains are classified according to different features such as the beginning and the end of the domain throughout the aminoacidic sequence (see Fig. 9). This way, it is possible to represent and see their expansion through the protein's 3D structure, thus we are able to compare the CATH Arginase superfamily and its corresponding Pfam HDAC domain for example (see Fig. 10).

Domain source	Start	End	Description
CDD	3	383	HDAC3
PANTHER	3	421	HISTONE DEACETYLASE
PANTHER	3	421	HISTONE DEACETYLASE 2
PIRSF	1	427	HDAC_I_euk
PRINTS	24	41	HISDACETLASE
PRINTS	57	75	HISDACETLASE
PRINTS	88	105	HISDACETLASE
PRINTS	109	129	HISDACETLASE
PRINTS	150	166	HISDACETLASE
PRINTS	210	223	HISDACETLASE
PRINTS	227	245	HISDACETLASE
Pfam	22	313	Hist_deacetyl
Gene3D	1	376	Histone deacetylase domain superfamily
PRINTS	131	154	HDASUPER
PRINTS	163	178	HDASUPER
PRINTS	249	259	HDASUPER
SuperFamily	4	369	Arginase/deacetylase

Fig. 9. Domains of HDAC3 protein. Data collected from: [17].

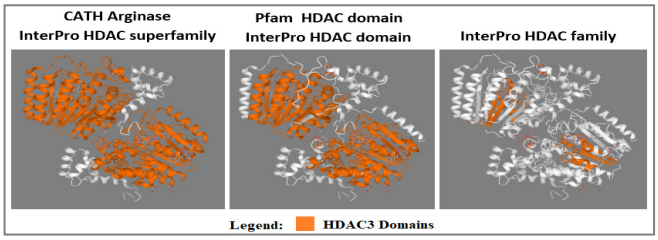


Fig. 10. HDCA3 Domains. The most relevant HDAC3 domains are shown in orange, in both chains of the protein, which in this case are bound to NCOR2. Data collected and modified from: [18].

2.3.3. Ramachandran Plot

The Ramachandran plot is used to deduce the secondary structure of a protein from the possible distribution of psi (Ψ) and phi (Φ) torsion angles found in it. Besides showing the common elements of secondary structures, Ramachandran plots reveal the regions of unusual arrangement of the peptide skeleton among other quality estimates (see Fig. 11).

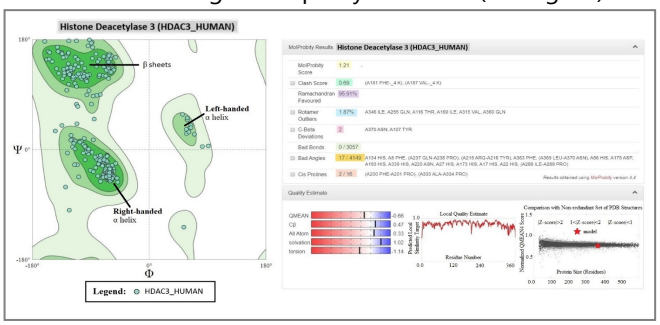


Fig. 11. Ramachandran plot of HDAC3 and regions of unusual arrangement. In the left half, the Ramachandran plot for HDAC3, the allowed secondary structures and the color coding (bottom) are represented. The y-axis represents psi (Ψ) angles, and the x-axis refers to phi (Φ) angles. In the right half, goals, relative percentages for Ramachandran plot, clash score, torsion angle, C-Beta deviations and bad values are shown. In the bottom part of the chart we find three graphs for the Quality Estimate (QMEAN, Local similarity Target and Z-score). Data collected and modified from: [19], [20].

2.4. Tertiary and Quaternary Structure

The tertiary structure refers to the three-dimensional arrangement of all atoms in the polypeptide chain. HDAC3 is a globular protein and its tertiary structure consists of a single polypeptide chain with the corresponding secondary structures (β-sheets, α-helixes, turns, and loops), (see Fig.12, left).

The quaternary structure of HDAC3 is composed of two HDAC3 subunits (chains A & B), present in specific complexes containing two monomers of NCOR2 (chains C & D), and an IP4 molecule per NCOR2 chain acting as an intermolecular glue between the two proteins (see Fig. 12, right) [20].

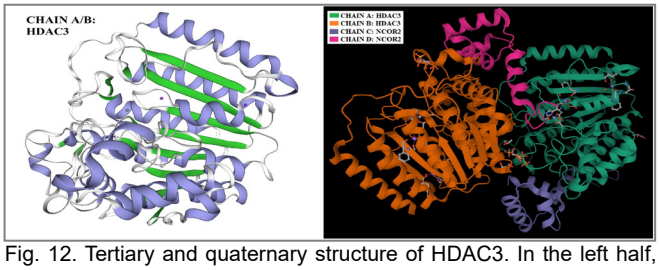


Fig. 12. Tertiary and quaternary structure of HDAC3. In the left half, the tertiary structure of one chain is shown (β-sheets in green, α-helixes in purple, and turns and loops in white). In the right half, the quaternary structure of HDAC3 (chains A & B) bound to NCOR2 (chains C & D) and to other Het groups, such as IP4. Each chain is color-coded (top). Data collected from: [18], [19].

2.5. Interactions

HDAC3 interacts with proteins of the HDAC family, such as HDAC1, 7, 9, and 10. It forms a heterologous complex with the zinc-finger transcription factor Yin-Yang-1 (YY1), interacts with NR2C1 (Nuclear Receptor Subfamily 2 Group C Member 1), and with XBP1 (X-Box Binding Protein 1) in endothelial cells under disturbed flow. Its weak interaction with CRY1 (Cryptochrome Circadian Regulator 1) is enhanced in the presence of FBXL3 (F-Box and Leucine-Rich Repeat Protein 3) and ARNTL/BMAL1 (Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein/ Brain and Muscle ARNT-Like 1). It interacts with Retinoic Acid Receptor Alpha (RARA), causing the inhibition of Retinoic Acid Response Element (RARE) DNA element-binding. Interactions with BCL6 (B-cell lymphoma 6 protein), DAXX (Death Domain Associated Protein), GPS2 (G Protein Pathway Suppressor 2), and SRY (Sex-determining Region Y) are also present [12], [14].

One of the most relevant interactions (mentioned and briefly described in the Quaternary structure section above) is the one established with NCOR2 in the N-CoR/SMRT repressor complex and with NCOR1. It is important to understand the correlation between the interactions and the coexpression of HDAC3 and other proteins (such as those mentioned above and others like TBL1X (Transducing Beta Like 1 X-Linked), KAT2A (Lysine acetyltransferase 2A), and EP300 (E1A Binding Protein P300)). Since they work as functional partners, they usually depend on each other to function or perform a certain activity (see Fig. 13).

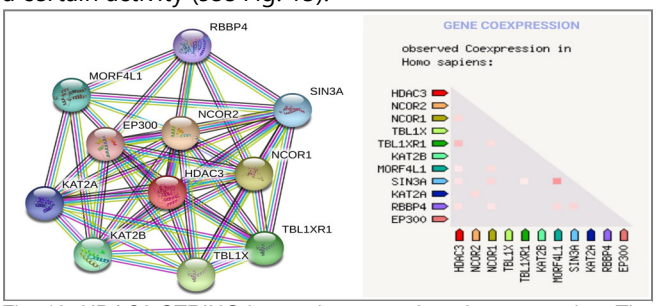


Fig. 13. HDAC3 STRING interaction network and coexpression. The network diagram in the left represents the most relevant interactions between HDAC3 (center, in red) and other proteins. In the right, coexpression scores in Homo sapiens based on RNA expression patterns and protein co-regulation are shown, plotting all the interacting proteins against each other. Data collected from: [21].

2.6. Ligands

HDAC3 presents four different types of ligands bound directly to it in its quaternary structure. These four ligands are glycerol (two per chain, four in total), zinc ions (one per chain, two in total), acetate ions (one per chain, two in total), and potassium ions (two per chain, four in total). Besides those four main ligands, when the two chains of HDAC3 are bound to two chains of NCOR2, another ligand comes into the picture and acts as an intermolecular glue between both proteins. This ligand, called D-Myo Inositol 1,4,5,6 tetrakisphosphate (commonly known as inositol phosphate or IP4) plays a crucial role in binding these two proteins for their correct function (there is one inositol phosphate per chain, two in total) (see Fig. 14). Each one of these ligands has specific binding sites throughout the HDAC3 sequence.

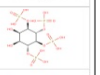
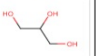
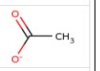
ID	Chains	Name / Formula / InChI Key	2D Diagram
I0P x1	C, D	**D-MYO INOSITOL 1,4,5,6 TETRAKISPHOSPHATE** $C_6H_{16}O_{18}P_4$ MRVYFOANPDTYBY-YORTWTKJSA-N	
GOL x2	A, B	**GLYCEROL** $C_3H_8O_3$ PEDCQBHIVMGVHV-UHFFFAOYSA-N	
ZN x1	A, B	**ZINC ION** Zn PTFCDOFLOPIGGS-UHFFFAOYSA-N	Zn^{2+}
ACT x1	A, B	**ACETATE ION** $C_2H_3O_2$ QTBSBXVTEAMEQO-UHFFFAOYSA-M	
K x2	A, B	**POTASSIUM ION** K NPYPAHLBTDXSSS-UHFFFAOYSA-N	K^+

Fig. 14. HDAC3 Ligands. HDAC3 ligands are shown, along with their 2D structure (right), their names and formulas (middle), the chains they are bound to (A,B for HDAC3 and C,D for NCOR2), and how many molecules are there of each ligand per chain (left). Data collected and modified from: [19], [20], [22], [23], [24].

2.7. Homologies

HDAC3 is very tightly conserved from plants to humans, so a very wide range of homologs of human HDAC3 is found in other species. These homologs are classified according to the percentage of identity with human HDAC3, going from 100% identity to only 50% identity among the different HDAC3s in other organisms (see Fig. 15).

Furthermore, the histone deacetylase domain of HDAC3 (amino acids 3 to 316) is partly homologous to the other class I HDACs (HDAC1, 2, and 8) although the carboxy-terminus part of the protein is highly differing. Thus, the HDAC3 protein is roughly 50% identical compared with other class I HDACs [2]. This is an important feature to take into consideration to differentiate the functions, activity, and localization of each kind of HDAC.

100 % Identity

Entry name	Protein names	Organisms	Length
HDAC3_HUMAN	**Histone deacetylase 3**	**Homo sapiens (Human)**	**428**
G1SW87_RABIT	Histone deacetylase 3	Oryctolagus cuniculus (Rabbit)	493
D2GUM1_AILME	Hist_deacetyl domain-containing protein (Fragment)	Ailuropoda melanoleuca (Giant panda)	406

90% Identity

Entry name	Protein names	Organisms	Length
Isoform 2 of HDAC3_HUMAN	**2, RPD3-2A**	**Homo sapiens (Human)**	**429**
HDAC3_XENLA	Histone deacetylase 3	Xenopus laevis (African clawed frog)	428
HDAC3_PONAB	Histone deacetylase 3	Pongo abelii (Sumatran orangutan) (Pongo pygmaeus abelii)	428

50% Identity

Entry name	Protein names	Organisms	Length
HDAC3_RAT	Histone deacetylase 3	Rattus norvegicus (Rat)	428
HDAC3_XENTR	Histone deacetylase 3	Xenopus tropicalis (Western clawed frog) (Silurana tropicalis)	428
HDAC3_TETNG	Histone deacetylase 3	Tetraodon nigroviridis (Spotted green pufferfish) (Chelonodon nigroviridis)	428

Fig. 15. HDAC3 homologs classified according to their percentage of identity with HDAC3. This figure shows a few examples of homologs of human HDAC3 at different identity thresholds (100%, 90% and 50%). In each chart, the names, lengths, and organisms they appear in are shown. Data collected and modified from: [25], [26], [27].

2.8. Functions

HDAC3 is an enzyme that removes acetyl groups from N(6)-acetyl-lysine residues on a histone (see Fig. 16), resulting in chromatin condensation. Histone acetylation plays an important role in the regulation of gene expression, therefore, in eukaryotes [28], HDACs play a key role in the regulation of transcription and cell proliferation. Histone deacetylation gives a tag for epigenetic repression [2].

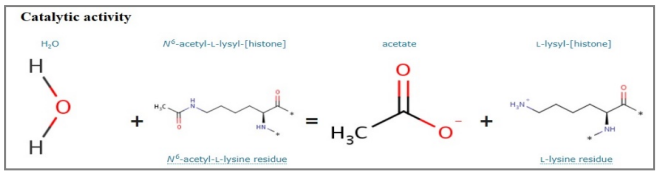


Fig. 16. Catalytic activity of HDAC3. HDAC3 removes the acetyl group of the lysine residues. Data collected from: [10].

HDACs modulate chromatin accessibility during transcription, replication, recombination, cell maturation, and repair. Thus, for re-establishing chromatin structure after transcription of a gene or the repair of a DNA double-strand break, the deacetylation of histones is required [29]. HDAC3 is in charge of the deacetylation of lysine residues on the amino-terminus of core histones and some other non-histone proteins (by associating with the acetyltransferases EP300 and CREB-binding protein-associated factor, it inhibits the myogenesis to reverse autoacetylation) [2]. By deacetylating the H3 'Lys-27' on enhancer elements, HDAC3 participates in the BCL6 transcriptional repressor activity, antagonizing EP300 acetyltransferase activity and repressing expression of proximal genes. Moreover, through its binding to YY1 and POU1F1 (POU Class 1 Homeobox 1), HDAC3 regulates their transcription. It acts as a molecular chaperone for phosphorylated NR2C1 to transport it to PML (Promyelocytic Leukemia protein) bodies for sumoylation. HDAC3 works with XBP1 isoform 1 in the activation of the gene expression of the NFE2L2 (Nuclear Factor, Erythroid 2 Like 2)-mediated HMOX1 (Heme Oxygenase 1) transcription factor. The NCOR1-HDAC3 complex regulates the circadian expression of the core clock gene ARTNL/BMAL1 in a deacetylase activity-independent manner, and the genes involved in lipid metabolism in the liver. HDAC3 plays a role in the repression of microRNA-10a and thereby in the inflammatory response when it is associated with RARA [10].

Furthermore, HDAC3 plays unique roles in cell physiology and has substrates in the different cell compartments, in accordance with the restricted homology of HDAC3 with the other HDACs and its subcellular localization. Unlike HDAC1 and 2, HDAC3 is necessary for cell growth and affects most cell types by regulating pro-apoptotic genes. Moreover, HDAC3 plays a role in signal transduction, development, inflammation, and metabolism. HDAC3 is found in diverse complexes consisting of members of the NCOR/SMRT family involved in gene repression (Fig. 17).

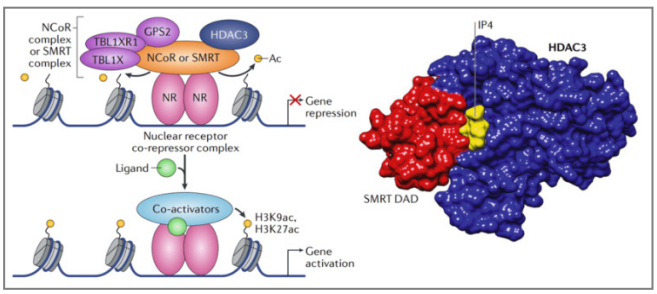


Fig. 17. Regulation of physiology of HDAC3 in the N-CoR/SMRT complex. The regulation process performed by the N-CoR/SMRT complex and HDAC3 is shown in the left half of the figure. In the right half, the structure containing NCOR2 (SMRT) and HDAC3 linked by IP4 is shown. Data collected from: [30].

Many transcription factors interact with HDAC3 and target it to certain promoters. HDAC3 is capable of controlling osteoblast differentiation and bone formation causing the inhibition of the trans-activity of the osteoblast master protein Runx2. Similarly, in hematopoietic stem cells, HDAC3, but not other class I HDACs, binds with GATA binding factor 2 suppressing its transcription [2].

HDAC3 and other class I HDACs are deregulated in a variety of cancers such as colon, ovarian, lung, stomach, muscle, bone, or skin cancers. Therefore, the downregulation of HDAC3 in cancer cells, in which it is overexpressed, results in cell growth inhibition, differentiation, and increased apoptosis. HDAC3 is recruited by MAGE-A (Melanoma-associated antigen) to block the activation of the tumor antigen p53 which keeps cells from dividing uncontrollably. In leukemia, the generation of oncogenic fusion proteins causes aberrant recruitment of N-CoR/SMRT-HDAC3 repressor complexes on promoters. Additionally, HDAC3 found in the nucleus plays an anti-apoptotic role that is determinant for the uncontrolled growth of cancer cells [2].

3. Discussion and Conclusions

In addition to the structural and functional characteristics of HDAC3, it is important to remark the roles that the histone deacetylase inhibitors (HDI) play in the regulation of the overexpression of HDAC3 to maintain the acetylation/deacetylation balance in genes. Therefore, HDIs are being used to treat a variety of cancers and other therapeutic uses, so it is essential to understand their action and potential side effects. Not only overexpression of HDAC3 must be determinant in genomic instability (that might lead to different diseases), but also the full inhibition of HDAC3 because the acetylation/deacetylation balance may be disrupted [29].

The other fundamental issue regards the possible applications of HDACs as emerging cancer drug targets. Several HDAC inhibitors are at various stages in clinical trials and two drugs, romidepsin and vorinostat, have been approved for the treatment of cutaneous T-cell lymphomas [20]. Several studies are performed with particular class I HDACs inhibitors for the treatment of pathological conditions like Spinal Muscular Atrophy, the Hodgkin lymphoma, myeloid leukemia, and myelodysplastic syndrome (associated with DNA methylation inhibitors) or of pancreatic cancers (associated with antimetabolites).

HDIs are currently being tested to enhance neuronal stability and survival in both *in vitro* and *in vivo* models of neurodegenerative diseases such as polyglutamine-related illnesses and amyotrophic lateral sclerosis. When joined with other antigens, HDAC3 may become a useful molecular biomarker as a diagnostical tool for a subset of colon cancer patients [2].

In conclusion, the single structural-functional characterization of HDAC3 and the understanding of the role that its inhibitors play, are key for present and future advances in the comprehension of genomic mechanisms with critical repercussions in clinical research, medical biotechnology, and biochemistry (see Fig. 18).

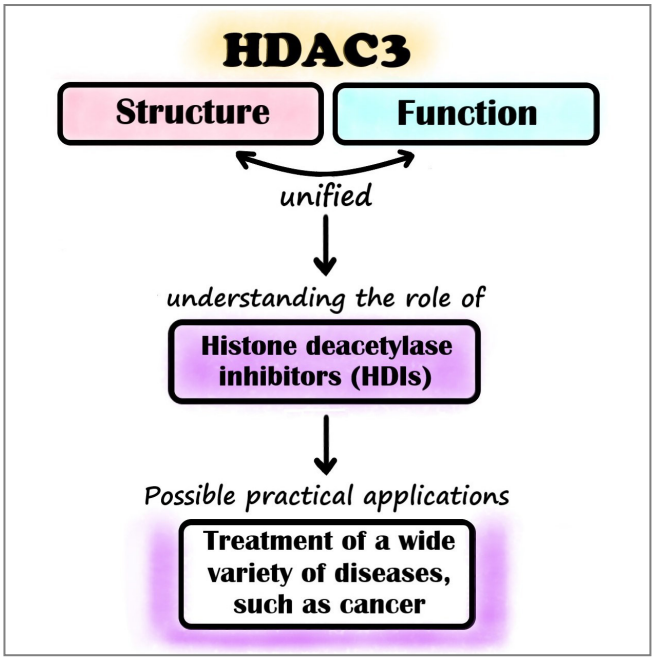


Fig. 18. Summary diagram proposed for the unified structural-functional approach.

Acknowledgments

The author thanks Professor Dr. Juan R. Tejedo for encouraging the realization of this review.

References

[1] M. Haberland, R.L. Montgomery and E.N. Olson, "The many roles of histone deacetylases in development and physiology: Implications for disease and therapy," *Nat. Rev. Genet.*, vol. 10, pp. 32–42, Jan 2009, doi: 10.1038/nrg2485.

[2] F. Escaffit, "HDAC3 (histone deacetylase 3)," *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.*, vol. 12, no. 2, pp. 104-107, 2008, doi: 10.4267/2042/38492.

[3] "Histone deacetylase 3 (HDAC3) (cd10005)," *InterPro*, 2020, https://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/cdd/CD10005/.

[4] S. Emiliani, W. Fischle, C. Van Lint, Y. Al-Abed and E. Verdin, "Characterization of a human RPD3 ortholog, HDAC3," *PNAS*, vol. 95, no. 6, pp. 2795-2800, Mar 1998, doi: 10.1073/pnas.95.6.2795.

[5] "Transcript: HDAC3-201 (ENST00000305264.8) – Summary," *Ensembl genome browser,* 2020, https://bit.ly/2As6rIz.

[6] "Homo sapiens histone deacetylase 3 (HDAC3) mRNA, complete cds," *NCBI*, 1999, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF039703.

[7] R. Rahhal and E. Seto, "Emerging roles of histone modifications and HDACs in RNA splicing," *Nucleic Acids Res.*, vol. 47, no. 10, pp. 4911-4926, Apr 2019, doi: 10.1093/nar/gkz292.

[8] "Domains within Homo sapiens protein HDAC3_HUMAN (O15379)," *SMART*, 2020, https://bit.ly/31KpKb9.

[9] "Histone deacetylase 3 [Homo sapiens]," *NCBI,* 1998 https://bit.ly/2VHyD1u.

[10] "O15379 (HDAC3_HUMAN) - Histone deacetylase 3 gene, protein & align results," *UniProt*, 2020, https://www.uniprot.org/uniprot/O15379.

[11] G.H. Eom and H. Kook, "Posttranslational modifications of histone deacetylases: Implications for cardiovascular diseases," *Pharmacol. Ther.,* vol. 143, pp. 168–180, Aug 2014, doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.02.012.

[12] "HDAC3 Gene (Protein Coding)," *GeneCards*, 2020, https://bit.ly/38qUtvh.

[13] "HDAC3 - Histone deacetylase 3 – Proteomics," *NeXtProt*, 2020, https://bit.ly/3ipSlsj.

[14] "Histone deacetylase 3 (O15379, human)," *PhosphoSitePlus*, 2020, https://bit.ly/38mhiQM.

[15] "4a69 - Structural details," *PDBj*, 2020, https://pdbj.org/mine/structural_details/4a69.

[16] "Browse CATH-Gene3D Hierarchy," *CATH*, 2020, http://www.cathdb.info/browse/sunburst?from_cath_id=3.

[17] "Transcript: HDAC3-201 (ENST00000305264.8) - Domains & features," *Ensembl genome browser,* 2020, https://bit.ly/3eRKCkx.

[18] "Histone deacetylase 3 in PDB entry 4a69," *PDBe*, 2012, https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/4a69/protein/1.

[19] "O15379 (HDAC3_HUMAN) – Structure Assessment and Interactive Modelling," *SWISS-MODEL*, 2020, https://swissmodel.expasy.org/repository/uniprot/O15379.

[20] P.J. Watson, L. Fairall, G.M. Santos and J.W.R. Schwabe, "Structure of HDAC3 bound to co-repressor and inositol tetraphosphate," *Nature*, vol. 481, pp. 335-340, Jan 2012, doi: 10.1038/nature10728.

[21] "HDAC3 protein (human) - STRING interaction network & coexpression view," *STRING*, 2020, https://string-db.org/network/9606.ENSP00000302967.

[22] "4A69: Structure of HDAC3 bound to corepressor and inositol tetraphosphate," *RCSB PDB*, 2012, http://www.rcsb.org/structure/4A69.

[23] "4a69 structure summary," *PDBe*, 2012, https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/4a69.

[24] "Histone deacetylase 3," *PDBe-KB*, 2020, https://www.ebi.ac.uk/pdbe/pdbe-kb/proteins/O15379.

[25] "UniRef - Cluster: Histone deacetylase 3 (100%)," *UniProt*, 2020, https://www.uniprot.org/uniref/UniRef100_O15379.

[26] "UniRef - Cluster: Histone deacetylase 3 (90%)," *UniProt*, 2020, https://www.uniprot.org/uniref/UniRef90_O15379.

[27] "UniRef - Cluster: Histone deacetylase 3 (50%)," *UniProt*, 2020, https://www.uniprot.org/uniref/UniRef50_O15379.

[28] "CATH Domain 4a69A00," *CATH*, 2020, http://www.cathdb.info/version/latest/domain/4a69A00.

[29] S. Bhaskara *et al.*, "Hdac3 is essential for the maintenance of chromatin structure and genome stability," *Cancer Cell*, vol. 18, no. 5, pp. 436-447, Nov 2010, doi: 10.1016/j.ccr.2010.10.022.

[30] Q. Zhao *et al.*, "HDAC3 inhibition prevents blood-brain barrier permeability through Nrf2 activation in type 2 diabetes male mice," *J. Neuroinflammation*, vol. 16, no. 103, May 2019, doi: 10.1186/s12974-019-1495-3.

Leyla M. Sánchez-Palancar is currently a student of the Biotechnology Degree at the Faculty of Experimental Sciences (Universidad Pablo de Olavide). Her study motivations include different topics of biochemistry and genetics, and her research interests involve genetic engineering, health biotechnology, and specific aspects regarding genetic disorders and pathologies.

Efecto de la temperatura del agua en la tasa de ósmosis de *Daucus carota*

Ángela Cebolla Sousa

Resumen: El cambio climático, y en concreto el ascenso de las temperaturas, no sólo provocan un aumento excesivo de esta en el agua procedente de la lluvia sino también en la frecuencia de las sequías, alterando algunos de los procesos fisiológicos de las plantas superiores, como es la ósmosis. En consecuencia, el cultivo de raíces alimenticias tan importantes como la zanahoria (*Daucus carota*) puede verse afectado. Con estos antecedentes, el objetivo de esta investigación ha sido analizar el efecto de la temperatura en la tasa de ósmosis de la zanahoria en medios hipotónicos e hipertónicos de sacarosa, con el fin de estudiar su impacto en épocas de lluvia abundante y escasa, respectivamente. Los resultados muestran que la temperatura óptima para el cultivo de esta hortaliza en periodos de lluvia es de 25 ºC, frente a los 5 ºC en temporadas secas, y que a partir de los 35 ºC la membrana plasmática se debilita considerablemente.

Palabras claves: *Daucus carota,* ósmosis, sacarosa, temperatura

1. Introducción

El calentamiento global ya no es solo un problema del futuro. La acumulación de gases contaminantes provoca que las temperaturas aumenten y que los climas cambien dando lugar a una de las catástrofes más graves a las que se enfrenta el hombre, la sequía. El crecimiento de las plantas superiores se ve especialmente perjudicado por ello, ya que estas extraen agua del suelo para realizar sus procesos fisiológicos. Es conocido que el agua penetra en los tejidos de la raíz por ósmosis, fenómeno físico-químico relacionado con el movimiento de un disolvente a través de una membrana semipermeable de manera espontánea, desde un medio con baja concentración de soluto a otro con una mayor concentración, con el objetivo de equilibrar la presión hidrostática. Por lo tanto, las sequías pueden tener importantes consecuencias para las plantas vasculares, provocando que queden expuestas a bajas concentraciones de disolvente en el suelo, con la consiguiente pérdida de agua [14]. Por otra parte, la radiación solar calienta la superficie de la tierra, por lo que además este disolvente podría estar sujeto a cambios de temperaturas extremos.

Entre las plantas superiores cultivadas que se consumen como alimento están las hortalizas, y dentro de este grupo, la zanahoria (*Daucus carota*), una de las verduras más populares del mundo, siendo la raíz la parte que se consume. Esta hortaliza posee además importantes beneficios para la salud, ya que contiene altos contenidos de betacarotenos (vitamina A), fibra y antioxidantes [10]. Uno de los procesos vitales en el cultivo de las zanahorias es la ósmosis, el cual se puede ver impactado por su área superficial, presión osmótica, diferencia de concentración de soluto entre el interior de sus células y el medio exterior, intensidad lumínica y temperatura, es decir, factores que afectan a la tasa de ósmosis [1]. Como muchos otros vegetales, cuando la zanahoria está en un medio hipotónico aumenta su tamaño, proceso llamado citólisis, mientras que si se encuentra en un medio hipertónico disminuye su volumen, fenómeno conocido como crenación (**Figura 1**).

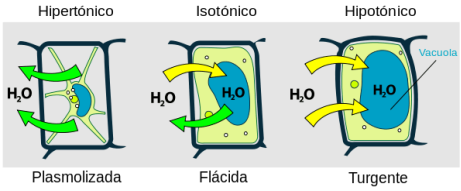


Figura 1. Estados en los que se encuentran las células vegetales en medios hipertónicos, isotónicos e hipotónicos [6].

La zanahoria contiene 4.7 g de sacarosa (fructosa y glucosa) por cada 100 g de masa. Este disacárido es fundamental para el crecimiento de la planta, y su concentración en el suelo debe ser de 0.15 M para que se halle en un medio isotónico [8]. Por ello, concentraciones superiores o inferiores a esta pueden dar lugar a que *Daucus carota* pierda o gane agua respectivamente, para igualar la concentración de este soluto fuera y dentro de sus células. Por otra parte, la temperatura también afecta a la tasa de ósmosis en la zanahoria, y al igual que la concentración de sacarosa y disolvente en el suelo, puede ser muy variable en la naturaleza, dependiendo de la estación del año, el terreno en el que se encuentre y el clima donde esté localizada. Cuanto más alta sea la temperatura, más energía cinética tendrán las partículas de agua, por lo que se produce un incremento en la presión osmótica, y por consiguiente en la tasa de ósmosis [1]. No obstante, a temperaturas muy altas, por ejemplo 65 ºC, la membrana semipermeable puede verse dañada de modo que comiencen a pasar solutos a través de ella porque se debilita [9,11]. De hecho, estudios previos realizados con una membrana semipermeable en medios hipotónicos e hipertónicos

demuestran que la tasa de osmosis es óptima a temperatura ambiente [4, 15]. Además, en la solución hipertónica también puede ocurrir un ensuciamiento de la membrana, es decir la acumulación en ella de solutos disueltos en el agua, como se observa en la **Figura 2**, evitando el transporte de este disolvente alrededor de la membrana semipermeable [15].

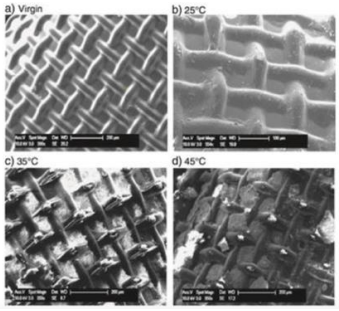


Figura 2. Imágenes de la membrana plasmática al microscopio electrónico después de estar 15 horas en un medio hipertónico con agua a 25 ºC (b), 35 ºC (c) y 45 ºC (d) en comparación con su estado inicial (a) [15].

2. Variables y metodología

Se midió la tasa de ósmosis en la zanahoria a 5 ºC, 15 ºC, 25 ºC, 35 ºC y 40 ºC, que se corresponden con las encontradas en distintos países en diferentes épocas de lluvia [7], ya que el agua adquiere dichas temperaturas al entrar en contacto con el aire [3]. Para ello, se utilizó un hervidor eléctrico con el fin de que este disolvente alcance los 35 y 40 ºC, lo que permitiría tener un menor gasto de materiales respecto a un baño María. Asimismo, y para adaptar la temperatura del agua a los 15 y 5 ºC, se introdujo la misma en un frigorífico y congelador, respectivamente. Por último, para que la temperatura de esta estuviese a 25 ºC se utilizó tanto el frigorífico como el hervidor.

La variable independiente secundaria fue la variación de las concentraciones de sacarosa disuelta en el agua destilada. Se escogió el azúcar como soluto ya que la zanahoria está parcialmente compuesta de sacarosa, se puede encontrar libre en el suelo [13] y existen pocos estudios respecto al efecto que esta ejerce en la tasa de osmosis de esta hortaliza. La concentración de este azúcar en el agua fue de 0.45 M en el medio hipertónico, el triple de la concentración media de sacarosa en la zanahoria (0.15 M), ya que un estudio previo demostró que a partir de esta concentración hay una pérdida significativa en la masa de esta hortaliza [16], y 0 M de la misma en el medio hipotónico. Estas variaciones en las concentraciones del azúcar fueron controladas con una balanza y una probeta. Asimismo, se introdujo en un vaso la zanahoria cortada en 4 trozos de igual dimensión, con 40 cm^3 de agua, a la temperatura de estudio y con las correspondientes concentraciones de sacarosa. Estos experimentos se llevaron a cabo de esta forma para realizar el menor gasto de recursos posible. Posteriormente, se mantuvo a las zanahorias en cada recipiente durante 1 hora, tiempo descrito como suficiente para realizar la ósmosis [5]. Por último, se calculó el cambio en la masa (%) de *Daucus carota* con ayuda de una balanza. Todo ello permitió analizar la diferencia en la tasa de ósmosis a distintas temperaturas y concentraciones de sacarosa. Se obtuvieron 50 medidas, 10 para cada temperatura y entre ellas, 5 para cada concentración de este azúcar.

3. Resultados

3.1. Efecto de la temperatura en el cambio de masa de *Daucus carota*

En la **Figura 3** se muestra el cambio porcentual de la masa de la zanahoria en un medio hipertónico (0.45 M) e hipotónico (0 M) de sacarosa a diferentes temperaturas. Como se puede observar en ella, la variación en la tasa de ósmosis de esta hortaliza es diferente en un medio hipertónico e hipotónico.

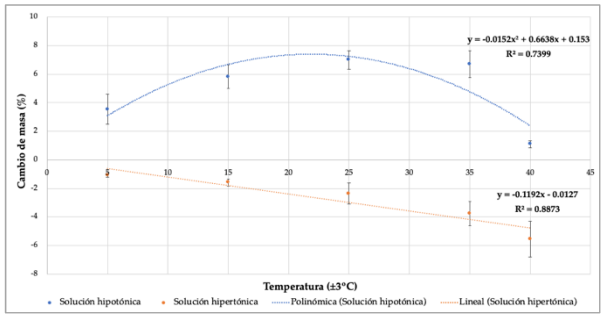


Figura 3. Cambio de masa (%) de la zanahoria en un medio hipotónico e hipertónico de sacarosa a diferentes temperaturas.

Como se puede apreciar en la figura, la tasa de ósmosis de la zanahoria en un medio hipotónico sigue un modelo parabólico, siendo la temperatura óptima para esta los 25 ºC, disminuyendo de manera notable a partir de los 35 ºC. En cambio, la variación de masa de *Daucus carota* sigue un modelo de regresión lineal en la solución hipertónica, siendo la tasa óptima de ósmosis los 40 ºC.

3.2. Coeficiente de correlación de Spearman entre la tasa de osmosis de *Daucus carota* y temperatura en medio hipertónico

Para comprobar si existe una correlación estadísticamente significativa entre la tasa de osmosis y la temperatura en un medio hipertónico de sacarosa, al encontrarse una relación lineal entre ambas, se calculó el coeficiente de correlación Spearman con los resultados obtenidos. Por ello, aceptar la hipótesis nula (H_0) indicaría que no existe una dependencia entre las dos variables en el rango de temperaturas estudiado. Para averiguarlo, se empleó la **Ecuación 1**.

$$r_s = 1 - \frac{6\Sigma d^2}{n(n^2-1)} \quad \textbf{(1)}$$

El resultado de esta ecuación es -0.942, por debajo del valor crítico (-0.805) para esta muestra. Por consiguiente, podría existir una dependencia entre la temperatura del agua en un rango de 5 ºC a 40 ºC y la tasa de osmosis *de Daucus carota* en un medio hipertónico.

4. Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la temperatura ejerce un impacto diferente en la tasa de ósmosis de *Daucus carota* según se encuentre en un medio hipotónico o hipertónico de sacarosa. No obstante, en ambos casos esta es menor a temperaturas bajas (5 ºC y 15 ºC) que altas, debido a que las moléculas de agua tienen una menor energía cinética y la membrana disminuye su permeabilidad, reduciendo por tanto la ganancia o pérdida de agua de esta hortaliza [12]. Del mismo modo, la tasa de ósmosis es mayor a temperaturas superiores probablemente debido al mayor movimiento de los fosfolípidos en la membrana plasmática, aumentando la capacidad de la zanahoria de ganar o perder agua o incluso otras partículas [9]. Asimismo, este incremento en la tasa se podría explicar también por la menor viscosidad del agua, mayor solubilidad de la sacarosa y permeabilidad del agua alrededor de la membrana plasmática. Estos fenómenos parecen haber predominado sobre el ensuciamiento que ocurre en ella en una solución hipertónica a altas temperaturas, evitando el transporte de agua [15]. Por otra parte, los resultados concuerdan con la ecuación de Van´t Hoff de la presión osmótica que se muestra en la **Ecuación 2**.

$$\Delta\pi = RT\Delta c \qquad (2)$$

Por lo tanto, a temperaturas más altas la presión osmótica es mayor y por ello también la tasa de ósmosis. Sin embargo, se observa que a partir de los 35 ºC en una solución hipotónica el aumento de masa disminuye, siendo prácticamente nulo a los 40 ºC. Este hecho podría indicar que, por difusión, solutos de pequeño tamaño atraviesan la membrana plasmática con más frecuencia debido a su mayor permeabilidad [9]. Todo ello explicaría además por qué la pérdida de masa empieza a incrementarse de manera más considerable entre los 25 ºC y 35 ºC, para después bajar en casi un 2% a 40 ºC en la solución hipertónica.

Del mismo modo, los resultados obtenidos en este trabajo se asemejan, en general, con lo descrito en la literatura científica. Así, por ejemplo, un estudio demostró que los mecanismos fisiológicos de la planta se ven afectados a partir de los 30-40 ºC [5]. De igual manera, se ha comprobado que si la zanahoria se mantiene durante media hora en un medio hipertónico de azúcar en un rango de temperatura de 20 a 60 ºC, su mayor pérdida de masa se produce a los 40 ºC [17]. Por otro lado, otros autores han descrito que el flujo del agua es mayor a 20-30 ºC que a 10 ºC y a 45 ºC cuando una membrana semipermeable se mantiene 15 horas en estos medios. En este último caso, los resultados obtenidos se relacionan con el ensuciamiento de ésta, que impide además la pérdida de otras partículas [15]. Esta contradicción entre ambos estudios permitiría concluir que el tiempo de duración del experimento puede ser fundamental para el efecto de este fenómeno en la tasa de ósmosis.

5. Conclusiones

Los datos obtenidos de este trabajo demuestran que la temperatura óptima del agua para que la zanahoria pueda absorber la mayor cantidad de esta en el suelo, crecer y desarrollarse de forma óptima es de 25 ºC. Esta temperatura se puede encontrar en países con climas tropicales lluviosos o mediterráneos en invierno, y en países oceánicos en verano. Además, se observó que a 5 ºC la zanahoria pierde el menor volumen de agua, lo que implica que en países continentales o polares el cultivo de zanahoria se verá menos impactado en épocas de sequía respecto a otros lugares del planeta. Sin embargo, en países tropicales con temperaturas alrededor de los 40 ºC [2], el cultivo de zanahorias se puede ver muy afectado, tanto en un medio hipotónico como hipertónico, al ganar esta hortaliza menos agua y perder otros solutos, respectivamente. Por lo tanto, puede que el aumento de las temperaturas y las sequías afecten de manera significativa a procesos fisiológicos fundamentales de los seres vivos.

Estos resultados podrían aplicarse además a distintos procedimientos industriales como la desalinización del agua, la transformación energética, sistemas farmacéuticos y el tratamiento de alimentos. En esta última área, cabría la posibilidad de emplear los datos obtenidos con la solución hipertónica de sacarosa, ya que al ser la zanahoria un alimento perecedero por su alto contenido en agua, permitiría su conservación prolongada. De esta forma, se podría extender la vida útil de la zanahoria e incluso de otros alimentos de una manera asequible, lo cual sería especialmente valioso en países subdesarrollados donde un porcentaje considerable de las frutas y verduras cultivadas se desechan [17].

Del mismo modo, la metodología de este trabajo podría extrapolarse a otras raíces alimenticias para demostrar cómo el cambio climático afecta a una gran variedad de alimentos que consumimos.

6. Bibliografía

[1] Apec. "A complete resource guide on osmosis", APEC Water, https://www.freedrinkingwater.com/resource-a-complete-resource-guide-to-osmosis.htm, 2011.

[2] Ayén, F., "Climas y paisajes naturales", Profesor Francisco, https://www.profesorfrancisco.es/2013/07/climas-y-paisajes-naturales.html, 2013.

[3] Byers, H., Moses, H., & Harney, P., "Measurement of rain temperature.", Journal of Meteorology, vol. 6, no 1, pp. 51-55. doi: 10.1175/1520-0469(1949)006<0051:mort>2.0.co;2, 1949.

[4] Cancilla, T., "The effect of temperature on the rate of osmosis", Prezi, https://prezi.com/hqn06hkicp4y/the-effects-of-temperature-on-the-rate-of-osmosis/, 2013.

[5] Chaves-Barrantes, N., & Gutiérrez-Soto, M., "Respuestas al estrés por calor en los cultivos I. Aspectos moleculares, bioquímicos y

fisiológicos.", Agronomía Mesoamericana, vol. 28, no 1, pp. 237-253, doi: 10.15517/am.v28i1.21903, 2016.

[6] Costas, G., "Ósmosis ¿qué es y qué función tiene?", Ciencia y Biología. https://cienciaybiologia.com/osmosis/, 2019.

[7] Dorado Weather, "World daily high and low 24 hours temperatures with maximum world rainfall.", El Dorado Weather, https://www.eldoradoweather.com/climate/ world-extremes/ world-temp-rainfall-extremes.php, 2019.

[8] Guzmán, M., "La sacarosa: el dulce de las plantas", sabermás, https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/267-numero-31/479-la-sacarosa-el-dulce-de-las-plantas.html, 2019.

[9] Hope, A., & Aschberger, P., "Effects of temperature on membrane permeability to ions." Australian Journal of Biological Sciences, vol. 23, no 4, doi: 10.1071/bi9701047, 1970.

[10] Leyva, L., "Zanahoria: propiedades, beneficios, origen, tipos, características y más.", tubérculos.org, https://www.tuberculos.org/zanahoria, 2019.

[11] Nabiadi, I., Murharbil, S., Kemp, R., & Reese, M. "How temperature affects osmosis", slideserve, https://www.slideserve.com/nat/how-temperature-affects-osmosis, 2012.

[12] Quinn, P., "Effects of temperature on cell membranes.", Symposia of the Society for Experimental Biology", vol. 42, pp. 237-258, 1988.

[13] Romero, L., & Vega, J., "XIII Reunión de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal", Universidad de Sevilla, pp. 34-35, 1999.

[14] Sadava, D. & Purves, W. Vida, "La ciencia de la biología", pp. 371, 2009.

[15] Shin, S., & Kim, A., "Temperature effect on forward osmosis", Osmotically driven membrane processes - approach, development and current status., doi: 10.5772/intechopen.72044. 2017.

[16] Wayne, L. "Carrot osmosis experiment", Infogram, https://infogram.com/carrot-osmosis-experiment-1gl8m373xqvwp36.

[17] Yadav, A., & Singh, S., "Osmotic dehydration of fruits and vegetables: a review", Journal of Food Science and Technology, vol. 51, no 7, pp. 1654-1673. doi: 10.1007/s13197-012-0659-2, 2012

Ángela Cebolla Sousa estudió el Bachillerato Internacional y el US High School Diploma en el Colegio Internacional de Sevilla San Francisco de Paula durante los cursos académicos 2018-2020. Este proyecto fue presentado para su evaluación interna en la asignatura de Biología Nivel Superior del Bachillerato Internacional. Actualmente cursa Medicina en el Imperial College de Londres.

Nanopartículas como antivirales: ¿un paso más en la lucha contra los virus?

Alejandro Castillo Peña y Ariadna Crespo González

Resumen— Los virus son agentes infecciosos que causan unas dos millones de muertes cada año. El uso de una vacuna no siempre es viable, por lo que los tratamientos antivirales son una alternativa necesaria para frenar estos patógenos, aunque pueden presentar efectos secundarios inevitables en células y tejidos sanos. Las nanopartículas tienen el potencial para convertirse en antivirales seguros y eficaces, pero para ello es importante el uso de variantes no tóxicas y el desarrollo de procesos de síntesis con un impacto medioambiental reducido.

Palabras Claves— Antiviral, Inhibición, Nanopartículas, Toxicidad, Virus.

1. Introducción

Los virus son el tema de moda este año, algo inevitable si tenemos en cuenta los estragos que está causando el SARS-CoV-2 en todo el mundo, ganándose por derecho propio el status de pandemia. Describiéndolos de forma general, los virus son agentes infecciosos que pueden dañar células, tejidos y órganos, siendo la causa de unos dos millones de muertes humanas cada año, número que probablemente se vea potenciado este 2020. Las vacunas son, actualmente, la herramienta más efectiva para combatir a estos patógenos, al prevenir la infección. Sin embargo, no siempre es posible tener vacunas disponibles para cada virus y cada variación del mismo, lo que pone de manifiesto la necesidad de desarrollar nuevos mecanismos para su tratamiento.

Existen diversos compuestos químicos que están disponibles para su uso como antivirales en determinadas enfermedades, como el ganciclovir en el caso de la varicela. El problema de estos medicamentos radica en los inevitables efectos secundarios que causan en las células y tejidos sanos, sobre todo en niños. La nanotecnología podría ser la solución, ya que, además de su contribución a otros campos, como la detección (tema que se trata en el número 32 de la revista), se han descubierto nanopartículas con potentes efectos inhibidores en la proliferación viral [1]. En este artículo, vamos a hablar de los mecanismos por los que diferentes nanomateriales actúan como antivirales y discutir si pueden convertirse en una estrategia efectiva y segura en el tratamiento de enfermedades virales.

2. Mecanismos antivirales de las nanopartículas

Los virus utilizan la maquinaria de la célula huésped para proliferar, mediante un proceso de infección conformado por seis pasos principales: fijación, penetración, desvestimiento, replicación, ensamblaje y liberación [2].

Los virus se fijan solo a determinados tipos celulares, ya que es necesaria una interacción específica entre un receptor concreto de la superficie de la célula huésped y una proteína de la cápsida vírica o glucoproteína de la envoltura del virus. Una vez el material genético del virus se encuentra dentro de la célula, comienza la replicación, cuyo mecanismo va a depender de la naturaleza del genenoma viral: si es ADN, se van a producir copias virales del mismo y se va a transcribir a ARN mensajero (ARNm) para la síntesis de proteínas de la cápsida; si es de ARN, este se utiliza como molde para replicación y también como ARNm (el mecanismo varía dependiendo de si el genoma de ARN es de sentido positivo o negativo). Tras el ensamblaje, se produce la liberación de los nuevos viriones producidos, que van a infectar a las células adyacentes. Todo este proceso daña y destruye las células afectadas [3], [4].

Las nanopartículas actúan inhibiendo alguno de los pasos mencionados anteriormente. Por ejemplo, pueden bloquear la fijación, al interaccionar con el virus y alterar la estructura protéica de la cápsida, reduciendo así la virulencia. También pueden suprimir la penetración y entrada al huésped, cambiando la superficie de la membrana celular y la estrutura de determinadas proteínas. En caso de que el material genético ya se haya introducido, otra posibilidad es impedir la replicación, inhibiendo a enzimas involucradas en el proceso. Por último, se puede intervenir en la liberación, evitando la infección de nuevas células por viriones que pueden ser más virulentos que su progenitor [1]. A continuación, vamos a profundizar en diversos nanomateriales con efecto antiviral y en su potencial para futuros tratamientos.

3. Nanomateriales con potencial antiviral

3.1. Quantum dots

Los Quantum dots (QDs) son nanocristales semiconductores con interesantes propiedades ópticas y electrónicas, dependientes de su tamaño, lo que ha llevado a que sean ampliamente utilizados en estudios de marcaje y detección [5]. Du et al. [6] investigaron el efecto antiviral de QDs de telururo de cadmio (CdTe QDs) utilizando como modelo el virus de la pseudorrabia. Se observó que los CdTe QDs inhibieron la entrada a la célula huésped al alterar la estructura de las

Alejandro Castillo Peña y Ariadna Crespo González. Biotecnología sanitaria, Universidad Pablo de Olavide. acaspea@alu.upo.es, acregon1@alu.upo.es.

proteínas de superficie víricas, a lo que se suma que la liberación de Cd^{+2} también disminuyó la virulencia. Se comprobó que tanto la carga de superficie como el tamaño de los QDs modifican el efecto inhibidor, siendo este mayor en los QDs cargados positivamente que en los cargados negativamente, así como en QDs de tamaño más grande.

Después de estos resultados, también se han estudiado QDs menos tóxicos, como nanocristales de Ag_2S (Ag_2S NCs) y los QDs de carbono (CDs). Du et al. [7] demostraron las propiedades antivirales de los Ag_2S NCs contra los virus de ARN. Por una parte, inhiben la síntesis de la hebra de ARN negativo vírico y la liberación por exocitosis del virus, pero también estimulan la expresión de citoquinas proinflamatorias (figura 1). En cuanto a los CDs, su capacidad antiviral depende del precursor y de las condiciones de síntesis. Se ha visto que los CDs favorecen la respuesta inmune innata al aumentar la producción de interferones, los cuales cumplen un papel muy importante en la defensa frente a virus [1]. Además, Huang et al. [8] fabricaron CDs derivados de monómeros de benzoxazina que se unían directamente a la superficie de los viriones, inhibiendo la fijación.

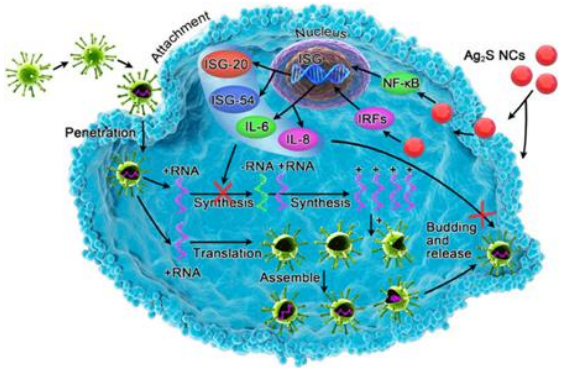


Fig. 1. Mecanismos por los que los Ag_2S NCs ejercen su actividad antiviral [7].

La función antiviral de los CDs puede mejorarse con las modificaciones químicas de superficie apropiadas. Un ejemplo es que los CDs funcionalizados con curcumina (CCM-CDs) inhiben la proliferación del virus con mucha más eficacia que los CDs no modificados con curcumina, usando como modelo el virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV), un coronavirus. El tratamiento con CCM-CDs impide la fijación, pero también bloquea la síntesis de ARN negativo del virus, la liberación y la acumulación de especies reactivas de oxígeno causada por PEDV [9]

3.2. Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas de plata (AgNPs) atraen mucho interés en el campo médico, debido a su actividad antiinflamatoria, antiangiogénica, antiagregante, antifúngica, anticancerígena y bactericida [1], además de su facilidad de síntesis. En cuanto a su actividad antiviral, aún hay poca información publicada al respecto, aunque se ha visto que la exhibe contra el influenzavirus A, el virus de la hepatitis B, el virus de parainfluenza humano, el virus herpes simple y el virus de la inmunodeficiencia humana [1]. Su efecto en el caso del virus influenzavirus A es especialmente destacable, y Chen et al. [10] han preparado una droga anti-influenza A, zanamivir, cargada en AgNPs. Zanamivir y las AgNPs tienen una eficacia antiviral relativamente alta por separado, pero en conjunto tienen un efecto sinérgico que aumenta la inactivación del virus, lo que lo convierte en un tratamiento potencial para su uso clínico.

Por su parte, las nanopartículas de oro también manifiestan actividad antiviral. Por ejemplo, Chattopadhyay et al. [11] utilizaron nanopartículas de oro monodispersas y estabilizadas con ácido gálico para inhibir al virus herpes simple. Las nanoparticulas de oro funcionalizadas mostraron un buen efecto inhibidor al interferir con el proceso de fijación del virus y, además, no se produjeron cepas resistentes, en comparación con el fármaco aciclovir. Otro ejemplo de su utilidad es el uso de un complejo compuesto por nanopartículas de oro modificadas con ácido hialurónico e interferón α para el tratamiento dirigido de la hepatitis C: su estabilidad es mayor que la del tratamiento tradicional de la enfermedad, polietilenglicol conjugado con interferón α, demonstrando el potencial de las nanoparticulas de oro como sistemas de entrega de fármacos [12]. Las nanopartículas de oro no pueden inhibir a los virus solas, pero al unirse a moléculas que interaccionan con los virus, el efecto antiviral aumenta exponencialmente, a través de interacciones multivalentes [1].

3.3. Grafeno

El grafeno es un nanomaterial que consiste en una única capa del grosor de un átomo de carbono en la que estos se disponen en forma de panal de abejas [13].

El grafeno oxidado (GO) es la forma de grafeno más extendida para los estudios sobre efectos antivirales. En el estudio realizado por Song et al. [14] se sugiere que los virus EV71 (que produce la enfermedad boca-mano-pie) y un subtipo del influenzavirus A se adsorben a la capa de GO mediante interacciones no covalentes que comprometen la integridad de la envoltura y cápside del virus, provocando la salida del material genético. Las condiciones expuestas en dicho estudio muestran que, al aumentar la temperatura, el efecto antiviral del grafeno oxidado sobre estos virus también aumenta, resultando que el efecto a 56ºC es mayor que a 37ºC, aunque a su vez este es mayor que a temperatura ambiente [14].

3.4. Polímeros y dendrímeros

Las nanopartículas poliméricas están compuestas por la repetición de una o varias unidades (monómeros) unidas de forma covalente. El mecanismo antiviral que suele emplearse con los polímeros es la inhibición de la adsorción del virus a la superficie celular, que puede ser modulada mediante polímeros cargados. Los polímeros policatiónicos tienden a unir las membranas virales y celulares, aumentando la posibilidad de infección; por su parte, los polímeros polianiónicos bloquean la adsorción viral: se sugiere que su actividad antiviral es menor en virus sin envoltura o con una elevada densidad de glucoproteínas, ya que esto dificulta la interacción del polímero con las glucoproteínas o incluso con la membrana lipídica [15]. Otra característica a tener en cuenta es que la actividad antiviral tiende a aumentar con la

longitud del polímero y su carácter anfipático. Un ejemplo de polímeros polianiónicos anfipáticos son los polímeros de ácidos nucleicos fosforotiolados (NAP), que interaccionan con el dominio anfipático de glucoproteínas de la envoltura de diferentes virus e impiden la fusión de las membranas viral y celular, como se observa en la figura 2 (este mecanismo es el que se produce sobre la glucoproteína gp41 del VIH-1, inhibiendo la entrada del virus a los linfocitos T) [16]. Además, se ha demostrado que los NAP disminuyen la liberación de partículas virales a la sangre en infecciones del virus HBV (virus de la hepatitis B), presentando también una actividad antiviral post-entrada en la que habría una interacción del NAP con una proteína celular necesaria para la formación de los viriones del HBV [17].

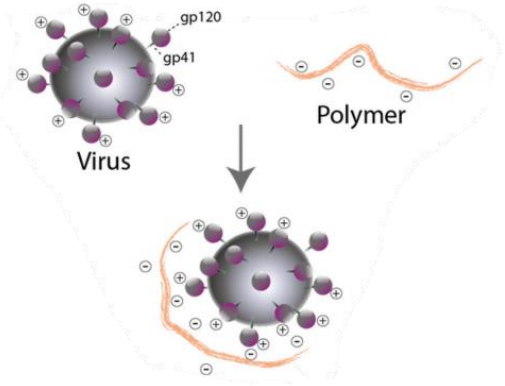


Fig. 2. Mecanismo de acción de un polímero polianiónico sobre el virus VIH-1. La interacción del polímero cargado y anfipático con las glucoproteínas de membrana impiden la adsorción del virus a la célula donde se replicaría [18].

Por su parte, la actividad antiviral de los dendrímeros también es objeto de estudio. Los dendrímeros están formados por un núcleo, monómeros dispuestos radialmente alrededor del núcleo y grupos superficiales que funcionalizan a la nanopartícula, que permiten que adquiera características interesantes para la actividad antiviral como la hidrofobicidad y carga eléctrica [19]. Un ejemplo de ello es la formación de dendrímeros polisulfonados o policarboxilados, que además de bloquear la entrada del VIH-1 a las células (en un mecanismo similar al de los polímeros lineales) inhibe la actividad retrotranscriptasa [20].

4. Toxicidad de las nanopartículas

En general, la actividad antiviral de las nanopartículas es mayor a medida que aumenta la concentración administrada, por lo que es necesario establecer mediante diferentes ensayos el valor de la dosis necesaria para mantener la eficacia antiviral y, al mismo tiempo, la seguridad para el organismo. Muchos estudios buscan nanopartículas de amplio espectro antiviral, es decir, que un único tipo de nanopartícula pueda ser empleada frente a varios tipos de virus; sin embargo, para poder conseguir una mayor capacidad antiviral a menor concentración puede que sea necesario su modificación mediante funcionalización, dotando a la nanopartícula de una mayor especificidad contra un virus en particular y mejorando aspectos tan importantes como la biodisponibilidad y solubilidad.

Por otro lado, cabe mencionar el proceso de síntesis de estas nanopartículas y el impacto ambiental que tiene, siendo cada vez más los estudios enfocados en lo que se ha denomindo “síntesis verde”. Esta consiste en el uso de matrices y extractos naturales como medio de obtención de las nanopartículas, caracterizándose por ser un mecanismo robusto, económico y sostenible para el medio ambiente [21], [22].

5. Nanopartículas contra el coronavirus

La pandemia en la que estamos inmersos hace que su causante, el SARS-CoV-2, merezca ser destacado. ¿Podrían las nanopartículas ser un tratamiento efectivo del COVID-19? Como se ha comentado previamente, los CDs combinados con curcumina han demostrado ser eficaces frente a modelos de coronavirus [9]. El GO también podría ser utilizado para combatir el virus, ya sea funcionalizado con compuestos como hipericina, en un nanocompuesto junto a plata (modulando la respuesta inmune) o como un sistema de entrega de antivirales. Sin embargo, el uso a corto plazo de este tipo de tratamiento es irrealista, debido a la falta de estudios sobres aspectos relacionados con la toxicidad, como la dosis óptima, y a problemas en la estabilidad en solución [23].

Aun así, los nanomateriales pueden ser una herramienta útil para evitar la propagación del virus, por ejemplo empleándolos en labores de diagnóstico o fabricando mascarillas con filtros de grafeno [23], [24].

6. Conclusiones

La nanotecnología constituye un campo de estudio muy prometedor, con aplicaciones que van desde la ingeniería, como el uso de materiales como el grafeno en baterías, hasta la biomedicina, donde las nanopartículas pueden ser utilizadas como vectores de medicamentos o en la detección de virus. En este artículo se ha visto que las nanopartículas, aunque son un grupo muy heterogéneo en cuanto a su composición o estructura, pueden presentarse como una opción a los clásicos antivirales. La funcionalización de las nanopartículas con ciertos grupos funcionales o moléculas (se ha mencionado la curcumina, el ácido hialurónico, el heparán sulfato y grupos carboxilo entre otros) mejoran su capacidad antiviral puesto que favorecen la interacción con el virus. Además, el uso de nanopartículas podría ser una opción para el tratamiento de infecciones provocadas por virus resistentes a los antivirales tradicionales.

Si bien es cierto que frente a una nueva enfermedad, como es el caso del COVID-19, se opta por estudiar fármacos ya bien establecidos para obtener resultados rápidos, como el remdesivir, no se debería dejar atrás el desarrollo de nuevos antivirales. Así, atendiendo a lo expuesto en este artículo, las nanopartículas se presentan, desde su síntesis hasta su acción antiviral, como una alternativa eficaz frente a los virus que merece ser reconocido.

REFERENCIAS

[1] L. Chen and J. Liang, "An overview of functional nanoparticles as novel emerging antiviral therapeutic agents," *Materials Science and Engineering C*, vol. 112, p. 110924, Jul. 2020, doi:10.1016/j.msec.2020.110924

[2] M. Oswald, S. Geissler, A. Goepferich, "Targeting the Central Nervous System (CNS): A Review of Rabies Virus-Targeting Strategies," *Molecular Pharmaceutics*, vol. 14, no. 7, pp. 2177–2196, Jul. 2017, doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00158

[3] R. W. Doms, "Basic Concepts: A Step-by-Step Guide to Viral Infection," *Viral Pathogenesis*, pp. 29-40, 2016.

[4] V. G. Chinchar, "Replication of viruses," *Encyclopedia of Virology*, A. Granoff and R. G. Webster, eds., Academic Press New York, pp. 1471-1478, 1999.

[5] X. Michalet, F. Pinaud, L. Bentolila, J. Tsay, S. Doose, J. Li, G. Sundaresan, A. Wu, S. Gambhir, S. Weiss, "Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics," *Science*, vol. 307, no. 5709. Science, pp. 538–544, Jan. 2005, doi: 10.1126/science.1104274

[6] T. Du, K. Cai, H. Han, L. Fang, J. Liang, S. Xiao, "Probing the interactions of CdTe quantum dots with pseudorabies virus," *Scientific Reports*, vol. 5, no. 1, pp. 1–10, Nov. 2015, doi: 10.1038/srep16403

[7] T. Du, J. Liang, N. Dong, J. Lu, Y. Fu, L. Fang, S. Xiao, H. Han, "Glutathione-Capped Ag2S Nanoclusters Inhibit Coronavirus Proliferation through Blockage of Viral RNA Synthesis and Budding," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 10, no. 5, pp. 4369–4378, Feb. 2018, doi: 10.1021/acsami.7b13811

[8] S. Huang, J. Gu, J. Ye, B. Fang, S. Wan, C. Wang, U. Ashraf, Q. Li, X. Wang, L. Shao, Y. Song, X. Zheng, F. Cao, S. Cao, "Benzoxazine monomer derived carbon dots as a broad-spectrum agent to block viral infectivity," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 542, pp. 198–206, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.jcis.2019.02.010

[9] D. Ting, N. Dong, L. Fang, J. Lu, J. Bi, S. Xiao, H. Han, "Multisite inhibitors for enteric coronavirus: antiviral cationic carbon dots based on curcumin," *ACS Applied Nano Materials*, vol. 1, no. 10, pp. 5451–5459, Oct. 2018, doi: 10.1021/acsanm.8b00779

[10] Z. Lin, Y. Li, M. Guo, T. Xu, C. Wang, M. Zhao, H. Wang, T. Chen, B. Zhu, "The inhibition of H1N1 influenza virus-induced apoptosis by silver nanoparticles functionalized with zanamivir," *RSC Advances*, vol. 7, no. 2, pp. 742–750, Jan. 2017, doi: 10.1039/c6ra25010f

[11] A. Halder, S. Das, D. Ojha, D. Chattopadhyay, A. Mukherjee, "Highly monodispersed gold nanoparticles synthesis and inhibition of herpes simplex virus infections," *Materials Science and Engineering: C,* vol. 89, pp. 413–421, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.msec.2018.04.005

[12] M. Lee, J. Yang, H. Jung, S. Beack, J. Choi, W. Hur, H. Koo, K. Kim, S. Yoon, S. Hahn, "Hyaluronic acid-gold nanoparticle/interferon α complex for targeted treatment of hepatitis C virus infection," *ACS Nano*, vol. 6, no. 11, pp. 9522–9531, Nov. 2012, doi: 10.1021/nn302538y

[13] K. Ghosal, K. Sarkar, "Biomedical Applications of Graphene Nanomaterials and beyond," *ACS Biomaterials Science and Engineering*, vol. 4, no. 8, pp. 2653–2703, Aug. 2018, doi:10.1021/acsbiomaterials.8b00376

[14] Z. Song, X. Wang, G. Zhu, Q. Nian, H. Zhou, D. Yang, C. Qin, R. Tang, "Virus Capture and Destruction by Label-Free Graphene Oxide for Detection and Disinfection Applications," *Small*, vol. 11, no. 9–10, pp. 1171–1176, Mar. 2015, doi: 10.1002/smll.201401706.

[15] F. Schandock, C. Riber, A. Röcker, J. Müller, M. Harms, P. Gajda, K. Zuwala, A. Andersen, K. Løvschall, M. Tolstrup, F. Kreppel, J. Münch, A. Zelikin, "Macromolecular Antiviral Agents against Zika, Ebola, SARS, and Other Pathogenic Viruses," *Adv.anced Healthcare Material*, vol. 6, no. 23, p. 1700748, Dec. 2017. doi: 10.1002/adhm.201700748

[16] A. Vaillant, "Nucleic acid polymers: Broad spectrum antiviral activity, antiviral mechanisms and optimization for the treatment of hepatitis B and hepatitis D infection," *Antiviral Research*, vol. 133, pp. 32–40, 01-Sep-2016, doi:10.1016/j.antiviral.2016.07.004

[17] M. Blanchet, V. Sinnathamby, A. Vaillant, P. Labonté, "Inhibition of HBsAg secretion by nucleic acid polymers in HepG2.2.15 cells," *Antiviral Res.*, vol. 164, pp. 97–105, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.antiviral.2019.02.009

[18] A. Smith, M. Kryger, B. Wohl, P. Ruiz-Sanchis, K. Zuwala, M. Tolstrup, A. Zelikin, "Macromolecular (pro)drugs in antiviral research," *Polymer Chemistry*, vol. 5, no. 22. Royal Society of Chemistry, pp. 6407–6425, Nov. 2014, doi: 10.1039/c4py00624k

[19] B. K. Nanjwade, H. M. Bechra, G. K. Derkar, F. V. Manvi, and V. K. Nanjwade, "Dendrimers: Emerging polymers for drug-delivery systems," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 38, no. 3, pp. 185–196, 08-Oct-2009, doi:10.1016/j.ejps.2009.07.008B

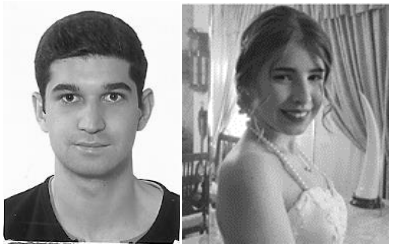
[20] B. Martínez-Gualda, L. Sun, O. Martí-Marí, C. Mirabelli, L. Delang, J. Neyts, D. Schols, M. Camarasa, A. San-Félix, "Modifications in the branched arms of a class of dual inhibitors of HIV and EV71 replication expand their antiviral spectrum," *Antiviral Res.*, vol. 168, pp. 210–214, Aug. 2019, doi: 10.1016/j.antiviral.2019.06.006

[21] S. A. Khan, S. Shahid, B. Shahid, U. Fatima, S. A. Abbasi, "Green Synthesis of MnO Nanoparticles Using Abutilon indicum Leaf Extract for Biological, Photocatalytic, and Adsorption Activities," *Biomolecules*, vol. 10, no. 5, p. 785, May 2020, doi:10.3390/biom10050785

[22] S. Choudhary, R. Kumar, U. Dalal, S. Tomar, S. N. Reddy, "Green synthesis of nanometal impregnated biomass – antiviral potential," *Materials Science Engineering: C*, vol. 112, p. 110934, Jul. 2020, doi:10.1016/j.msec.2020.110934

[23] V. Palmieri and M. Papi, "Can graphene take part in the fight against COVID-19?," *Nano today*, 100883, May. 2020, doi: 10.1016/j.nantod.2020.100883

[24] W. Chan, "Nano Research for COVID-19", *ACS nano*, vol. 14, no. 4, pp. 3719-3720, Mar. 2020, doi: 10.1021/acsnano.0c02540



Alejandro Castillo Peña y Ariadna Crespo González. Ambos recibieron el título de graduado en Bioquímica con mención en Bioquímica Molecular por la Universidad de Sevilla en 2019. Actualmente son estudiantes del máster en Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo de Olavide.

Las nanopartículas en la lucha frente al COVID-19

Andrés Lara Rodríguez, Rocío Piñero Pérez

Resumen — La aparición y diseminación de la enfermedad COVID19 a comienzos de año supuso el inicio de una carrera con el objetivo de desarrollar posibles estrategias de diagnóstico y tratamiento de la enfermedad. Así, en el presente artículo se realiza una revisión sobre los principales sistemas basados en el uso de nanopartículas que actualmente se están desarrollando para diagnosticar y tratar la infección por COVID-19.

Palabras Claves — COVID-19, familia *Coronaviridae*, Nanotecnología, Nanopartículas, SARS-CoV-2.

1. Introducción

Los primeros casos de síndrome respiratorio agudo severo por coronavirus (SARS-CoV-2) surgieron en China a comienzos del mes de diciembre [1] y, desde entonces, la enfermedad se ha extendido rápidamente a lo largo de todo el mundo. La enfermedad, conocida por el nombre de COVID-19 (enfermedad por coronavirus 2019) es causada por el coronavirus SARS-CoV-2, perteneciente al género *Betacoronavirus*, integrante de la familia *Coronaviridae* [2]. Se trata de un virus de ARN monocatenario de sentido positivo y envuelto, que se transmite de persona a persona a través de gotitas respiratorias que se expulsan o mediante superficies contaminadas y contacto con las mucosas, lo que ha facilitado la extensión rápida del virus a nivel mundial.

A nivel etiológico, el cuadro clínico asociado a la infección por SARS-CoV-2 (que incluye fiebre, dolor de garganta, fatiga y tos) parece tener su origen en la enzima ACE2 pulmonar, que actuaría como receptor permitiendo la entrada del virus dentro de la célula epitelial alveolar, sin embargo, también se ha encontrado que la proteasa celular TMPRSS2 es necesaria para permitir la entrada del coronavirus en las células huésped [3]. En cualquier caso, una vez la infección tiene lugar, una replicación rápida y masiva de las proteínas víricas parece promover una respuesta inmune potenciada que resulta en una liberación masiva de citoquinas proinflamatorias que, en última instancia, acaban por provocar un importante daño del tejido pulmonar [4].

En lo referente al diagnóstico, la prueba que actualmente se tiene como referencia es la RT-PCR dirigida frente a genes víricos como el gen de la RNA polimerasa dependiente de RNA, por ser el que permite una mayor sensibilidad en cuanto a detección [5]. Por otro lado, en lo que atiende a posibles tratamientos, son muchas las estrategias que actualmente se están abordando a la hora de intentar curar la enfermedad, y que van desde el uso de antivirales y anticuerpos dirigidos contra el virus, hasta el hallazgo de una posible vacuna, pasando por terapias con las que lograr paliar los síntomas [6].

En vista a lo expuesto, y considerando la necesidad actual de nuevos métodos de diagnóstico y tratamientos eficaces frente al COVID-19, en el siguiente artículo procedemos a realizar una revisión sobre algunas de las investigaciones más prometedoras en ambos ámbitos, teniendo todas ellas como elemento común la nanotecnología.

2. Papel de la nanotecnología en la lucha frente al COVID-19

La nanomedicina, nueva displicina basada en la utilización de nanomateriales en aplicaciones biomédicas, se plantea como una herramienta util en la lucha para combatir al nuevo virus SARS-CoV-2, ya que se sabe que los nanomateriales pueden usarse en el diseño de sistemas de análisis y diagnosis de enfermedades; existen nanomateriales con antividad antiviral y, además, es posible utilizarlos para vehicularizar fármacos y para desarrollar nuevas vacunas efectivas.

2.1. Uso de nanoestructuras con propiedades antivirales

Además del desarrollo de fármacos antivirales, un punto importante al que se debe prestar atención es al desarrollo de superficies antivirales y antibacterianas, junto con equipos y tecnologías de descontaminación cuyo objetivo es frenar la propagación del virus, ya que la contaminación de las superficies puede ser responsable de muchos de los contagios por SARS-CoV-2.

Se ha visto que la viabilidad más larga de SARS-CoV-2 se da en superficies de acero inoxidable (vida media de aproximadamente 5.6h) y plástico (vida media aproximadamente de 6.8h); sin embargo, se ha observado que en el cobre la inactivación del virus se producía de manera muy rápida [7]. Se demostró en estudios con otros vi-

Andrés Lara Rodríguez. Rocío Piñero Pérez,
Máster Biotecnología Sanitaria, Universidad Pablo de Olavide.

rus miembros de la familia *Coronaviridae*, que la liberación de iones de cobre y la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) eran responsables de la inactivación de los coronavirus en superficies de cobre y de aleaciones de cobre [7]. Respecto a la citotoxicidad del cobre, se ha demostrado que, a bajos niveles de concentración, los iones Cu (II) poseen baja citotoxicidad en las células eucariotas [8]. Por otro lado, la acción antiviral de las nanopartículas metálicas, en particular de las nanopartículas de plata (AgNP), es bien conocida. Por ejemplo, se vio que las AgNP eran capaces de inhibir la entrada viral en las células huésped en el caso del virus VIH-1, lo que demuestra que las AgNP pueden interactuar con los receptores celulares; y las nanopartículas de oro (AuNP) estabilizadas por polímeros biocompatibles mostraron actividad antiviral contra el VIH-1 y algunos subtipos del virus de la gripe [9]. En concreto, se sabe que los sistemas basados en nanopartículas de plata y cobre cargados en oxido de grafeno (una forma oxidada de grafeno que posee actividad antimicrobiana y alta biodisponibilidad, utilizada para múltiples aplicaciones, como sensores biomédicos, suministro de medicamentos…) son muy eficaces contra virus envueltos y no envueltos [10]. Por otro lado, varios biocidas, ya aprobados, a base de plata u óxido de zinc también están esperando ser probados contra el SARS-CoV-2.

Estudiar estas distintas estrategias podría resultar relevante, ya que el uso inadecuado de los equipos de protección es responsable en numerosos casos del contagio y la muerte de muchos trabajadores de la salud, y de la propagación viral hospitalaria. Por lo tanto, sería posible explotar las propiedades antimicrobianas conocidas de nanoestructuras que contienen cobre, plata, o zinc [11], para luchar contra el COVID-19 y, más específicamente, para prevenir y limitar la contaminación y el contagio.

2.2. Uso de nanopartículas como vehículo de fármacos

A pesar de que aún no hay literatura disponible al respecto, la nanotecnología podría usarse para desarrollar una nanomedicina segura y eficaz contra el SARS-CoV-2. La idea principal sería combinar nanomateriales con antividad antiviral, por ejemplo, nanopartículas de metal, con fármacos antivirales para así frenar la difusión del virus. De esta forma, las nanopartículas metálicas actuarían como agentes administradores de fármacos, mejorando la farmacocinética de los mismos y reduciendo los efectos adversos. Esto podría llevarse a cabo con medicamentos antivirales aprobados por Organización Mundial de la Salud (OMS) como son la cloroquina (CQ) y la hidroxicloroquina (HCQ), que además de demostrar potentes efectos antivirales frente a SARS-CoV-2 [12], [13], se ha visto que son capaces de formar complejos metálicos con iones Fe (II), Ni (II), Zn (II) y Cu (II) [9]. El uso de nanopartículas modificadas con fármacos ya se ha probado frente a distintitos virus [14]. Por ejemplo, para el virus de la gripe Influenza H1N1, Li et al. [15] observaron *in vitro* que el uso de nanopartículas de plata modificadas con oseltamivir, un inhibidor de la neuroaminidasa (NA) (enzima que utiliza el virus para infectar las células), reducía de manera eficiente la infección. Además, se ha visto que el uso de nanopartículas para vehicularizar fármacos podría mejorar el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorios por ejemplo, si las nanopartículas se recubren con polímeros que faciliten la penetración de la mucosa respiratoria, o si se utilizan nanopartículas biodegradables estables y capaces de superar la membrana celular y actuar en el pulmón con niveles mínimos de toxicidad [14].

Respecto al desarrollo de vacunas, el uso de nanopartículas también podría mejorar las limitaciones que poseen las vacunas convencionales y de subunidades, como son la inducción de una respuesta inmune débil o la inmunogenicidad parcial o limitada, ya que debido a las características de las nanopartículas, derivadas del control del tamaño, la forma y la funcionalización de la superficie, es posible lograr una fuerte inmunogenicidad y una mejor presentación de antígenos [14].

2.2. Uso de nanopartículas en el desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico de COVID-19

El sistema de diagnóstico del COVID-19 de referencia, tal y como se mencionó en el apartado anterior, es la PCR de transcripción inversa, a pesar de que esta presenta ciertas limitaciones, habiéndose documentado falsos negativos posiblemente derivados de falta de material viral en las muestras o de dificultades en la extracción [16]. Es por ello que en estos casos se recurre a métodos confirmatorios como la tomografía computerizada de tórax [17], que resulta poco práctica y difícil de aplicar de forma sistemática. Por ello, son muchos los sistemas que en los últimos meses se han planteado como alternativa en cuanto a métodos confirmativos se refiere. De entre ellos, destacan aquellos basados en inmunoensayos de flujo lateral (LFIAs), dada su rapidez y fácil aplicación [18], pues no requieren muestreos invasivos ni capacitación especializada, permitiendo obtener resultados en pocos minutos. Además de estos inmunoensayos, cabe destacar que el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) ha obtenido financiación europea para desarrollar en el Instituto Catalán de Nanociencia y Nanotecnología (ICN2) y bajo el liderazgo de la investigadora Laura Lechuga, un nuevo dispositivo biosensor basado en nanotecnología biosensora ó Otrptica que permitirá la detección del coronavirus en unos 30 minutos, directamente a partir de la muestra del paciente y sin necesidad de realizar los análisis en laboratorios clínicos centralizados [19]. Además, estiman que este nuevo biosensor será capaz de discriminar rápidamente si se trata de infección por coronavirus o por gripe común [19].

2.2.1. Detección rápida de IgG anti-SARS-Cov2 mediante LFIA basada en nanopartículas

Los sistemas LFIA directos, como el aquí expuesto en la Figura 1, siguen el mismo fundamento que la técnica de ELISA sándwich, con la única diferencia de que éste tiene lugar a lo largo de una almohadilla reactiva [20]. De este modo, tras la incorporación de la muestra a uno de los extremos de la tira reactiva, el analito de interés, la IgG anti-SARS-CoV2, sufre un proceso de conjugación con un anticuerpo detector específico, en este caso, anti-IgG humana de ratón marcada con nanopartículas de poliesti-

reno dopado con lantánidos (LNPs), detectables y cuantificables por fluorescencia. Tras esto, desde la almohadilla donde se dio la conjugación el conjugado fluye hasta una membrana analítica donde una fosfoproteína recombinante de la nucleocápsida del SARS-CoV-2, inmovilizada y con capacidad de unión a la IgG anti-SARS-CoV2, permite la visualización de la señal fluorescente en un lector de fluorescencia. Adicionalmente y a modo de control, a nivel de la almohadilla de conjugación también se disponen LNPs funcionalizados con IgG de conejo que posteriormente y a nivel de la membrana analítica son detectados tras su unión a anticuerpos de cabra anti-IgG de conejo [18], [21].

En lo referente al proceso de funcionalización de las LNP con anti-IgG humana e IgG de conejo, se siguió un

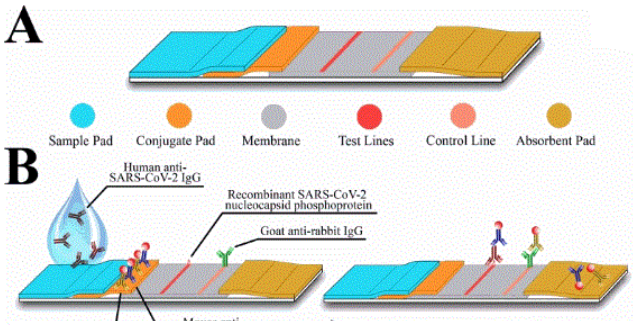


Fig. 1. (A) Tira reactiva de flujo lateral; se representan cada una de las membranas constituyentes a lo largo de las cuales van teniendo lugar las diferentes etapas del inmunoensayo. (B) Ensayo realizado; se muestran los puntos de anclaje de los anticuerpos y la distribución de las bandas analíticas. Figura de Chen et al. [18].

procedimiento basado en la activación de las nanopartículas mediante agentes activadores de grupos carboxilo (NHS/EDC) [22], que servirían como grupo de anclaje al anticuerpo. Asimismo, el proceso se realizó a lo largo de dos etapas (activación/unión) para evitar una posible agregación de las LNPs.

3. Discusión

Como se ha descrito en los distintos apartados del artículo, la nanotecnología y en particular, el uso de nanopartículas metálicas, parece tener un enorme potencial en la prevención, el mantenimiento de la esterilidad en superficies y equipos de protección, y el tratamiento de COVID-19. Sin embargo, a pesar de las propiedades antivirales demostradas, el uso de nanopartículas metálicas se enfrenta a diversas limitaciones como son los riesgos de toxicidad y otros aspectos prácticos como el rendimiento de la producción, la durabilidad, el impacto ambiental, etc. Sivasankarapillai et al. [14] señalan que entre los aspectos principales que deben tenerse en cuenta en el contexto del uso de las nanopartículas y los enfoques asociados se encuentran el estrés oxidativo, la genotoxicidad, la inflamación y la fibrosis. Respecto al estrés oxidativo, las nanopartículas podrían generar especies reactivas de oxígeno (ROS) y oxidación de sistemas antioxidantes, pudiendo influir esto en el sistema respiratorio y actividades patobiológicas asociadas, incluidas la inflamación pulmonar y la genotoxicidad [14]. Además, respecto a la genotoxicidad, antes de desarrollorasr sistemas basados en nanopartículas, sería importante determinar si las nanopartículas empleadas pueden unirse al ADN o interaccionar con constituyentes de la división celular, tales como los microtúbulos del huso mitótico o los centrómeros [14]. Por lo tanto, tener en cuenta la importancia de estos factores y tratar de mejorarlos es esencial para poder diseñar sistemas seguros basados en nanopartículas. Para evitar la nanotoxicidad se plantean estrategias como recubrir las nanopartículas con polímeros biocompatibles o usar nanopartículas biodegradables.

Por otro lado, respecto al uso de nanotecnología para el desarrollo de nuevos sistemas de detección de SARS-CoV-2, el objetivo es encontrar sistemas de diagnóstico rápidos y sensibles para COVID-19 que solventen las limitaciones que poseen los disponibles actualmente, como son la baja sensibilidad, procedimientos experimentales laboriosos y gran tiempo entre la recolección de las muestras y la obtención de los resultados como ocurre con el diagnóstico por PCR, y altas tasas de falsos negativos en el caso de los test rápidos basados en la detección de anticuerpos [23].

Por lo tanto, teniendo en cuenta las limitaciones que existen y tratando de solventarlas, el uso de la nanotecnología podría ser útil en la prevención, diagnóstico y tratamiento de COVID-19.

4. Conclusiones

La pandemia ocasionada por el COVID-19 se ha cobrado, por ahora, más de 300.000 vidas en todo el mundo [24], lo que ha provocado la movilización de investigadores de diferentes ramas de la biomedicina para encontrar una solución o tratamiento para combatir esta pandemia. Dentro de esta situación, la nanociencia puede desempeñar un papel importante, a pesar de que las publicaciones científicas relacionadas sean escasas. Las aplicaciones de la nanotecnología en la lucha frente al COVID-19 se pueden resumir en el uso de nanoestructuras con actividad antiviral para recubrir superficies y modificar equipos de protección aumentando su acción protectora y previniendo el contagio (I); el uso de nanopartículas con actividad antiviral (nanopartículas metálicas) para vehicularizar fármacos antivirales y así mejorar la efectividad y la farmacocinética de los mismos, facilitar la llegada de los fármacos a las vías respiratorias y reducir los efectos adversos (II); el uso de la nanotecnología para el desarrollo de vacunas con mejor inmunogenicidad (III); y por último, el uso de nanopartículas para el desarrollo de biosensores y sistemas de detección del nuevo virus SARS-CoV-2 más rápidos y sensibles que los métodos de detección usados actualmente. Todas estas estrategias basadas en nanotecnología podrían iniciarse usando algunos nanomateriales ya bien conocidos, que se han aplicado a otros virus de la familia *Coronaviridae* o virus similares. Por lo tanto, aumentar el conocimiento en el ámbito de la nanotecnología y la bioseguridad de los nanomateriales será una herramienta importante para combatir la enfermedad COVID-19.

REFERENCIAS

[1] Q. Li, X. Guan, P. Wu, X. Wang, et al., "Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia" *New England Journal of Medicine*, vol. 382, no. 13, pp. 1199–1207, May 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2001316

[2] H. Li, S. M. Liu, X. H. Yu, S. L. Tang, C. K. Tang, "Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives" *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 55, no.5,pp.105951,May 2020, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105951

[3] K. Kuba, Y. Imai, S. Rao, H. Gao, et al., "A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury" *Nature Medicine*, vol. 11, no. 8, pp. 875-879, Aug 2005, doi:10.1038/nm1267

[4] R. Channappanavar, S. Perlman, "Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology" *Seminars in Immunopathology*, vol. 39, no. 5, pp. 529-539, Apr 2017, doi: 0.1007/s00281-017-0629-x

[5] J. F. W. Chan, C. C. Y. Yip, K. To, T. Tang, S. C. Y. Wong, K. H. Leung, "Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay validated in vitro and with clinical specimens" *Journal of Clinic Microbiology*, vol. 58, no. 5, pp. 310-320, Apr 2020, doi: 10.1128/JCM.00310-20

[6] P. Zhai, Y. Ding, X. Wu, J. Long, Y. Zhong, Y. Li, "The epidemiology, diagnosis and treatment of COVID-19" *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 5, no. 5, pp. 105955, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105955

[7] N. Van Doremalen, T. Bushmaker, D. H. Morris, M. G. Holbrook, A. Gamble, B. N. Williamson, A. Tamin, J. L. Harcourt, N. J. Thornburg, S. I. Gerber, J. O. Lloyd-Smith, E. de Wit, V. J. Munster, "Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1" *The New England Journal of Medicine*, vol. 382, no. 16, pp. 1564-1567, Apr 2020, doi:10.1056/NEJMc2004973.

[8] S. Shaligram and A. Campbell, "Toxicity of copper salts is dependent on solubility profile and cell type tested" *Toxicology In Vitro*, vol. 27, no. 2, pp. 844–851, Mar 2013, doi:10.1016/j.tiv.2012.12.026.

[9] M.C. Sportelli, M. Izzi, E. A. Kukushkina, S. I. Hossain, R. A. Picca, N. Ditaranto and N. Cioffi, "Can Nanotechnology and Materials Science Help the Fight against SARS-CoV-2?," *Nanomaterials*, vol. 10, no. 4, pp. 802, Apr 2020, doi:10.3390/nano10040802.

[10] Y. N. Chen, Y. H. Hsueh, C. T. Hsieh, D. Y. Tzou, P. L. Chang, "Antiviral Activity of Graphene–Silver Nanocomposites against Non-Enveloped and Enveloped Viruses" *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 13, no. 4, pp. 430, Apr 2016, doi:10.3390/ijerph13040430.

[11] M. C. Sportelli, R. A. Picca, N. Cioffi, "Recent advances in the synthesis and characterization of nano-antimicrobials" *Trac Trends in Analytical Chemistry*, vol. 84, pp. 131–138, Nov 2016, doi:10.1016/j.trac.2016.05.002.

[12] M. E. Rebeaud and F. Zores, "SARS-CoV-2 and the Use of Chloroquine as an Antiviral Treatment" *Frontiers in Medicine*, vol. 7, pp. 184, Apr 2020, doi:10.3389/fmed.2020.00184.

[13] J. Liu, R. Cao, M. Xu, X. Wang, H. Zhang, H. Hu, Y. Li, Z. Hu, W. Zhong, M. Wang, "Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro" *Cell Discovery*, vol. 6, 16, Mar 2020, doi:10.1038/s41421-020-0156-0.

[14] V. S. Sivasankarapillai, A. M. Pillai, A. Rahdar A. P. Sobha, S. S. Das, A. C. Mitropoulos, M. H. Mokarrar, G. Z. Kyzas, "On Facing the SARS-CoV-2 (COVID-19) with Combination of Nanomaterials and Medicine: Possible Strategies and First Challenges" *Nanomaterials*, vol. 10, no. 5, pp. E852, Apr 2020, doi:10.3390/nano10050852.

[15] Y. Li, Z. Lin, M. Zhao, T. Xu, C. Wang, L. Hua, H. Wang, H. Xia, B. Zhu, "Silver Nanoparticle Based Codelivery of Oseltamivir to Inhibit the Activity of the H1N1 Influenza Virus through ROS-Mediated Signaling Pathways" *ACS Applied Materials and Interfaces*, vol. 8, no. 37, pp. 24385-24393, Sep 2016, doi:10.1021/acsami.6b06613.

[16] R. Sánchez-Oro, J. Torres Nuez, G. Martínez-Sanz, "Radiological findings for diagnosis of SARS-CoV-2 pneumonia (COVID-19)" *Medicina Clinica*, vol. S0025-7753, no. 20, pp. 30185-30188, Apr 2020, doi: 10.1016/j.medcli.2020.03.004

[17] X. Xie, Z. Zhong, W. Zhao, C. Zheng, F. Wang, J. Liu, "Chest CT for Typical 2019-nCoV Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing" *Radiology*, 200343, Feb 2010, doi: 10.1148/radiol.2020200343

[18] Z. Chen, Z. Zhang, X. Zhai, Y. Li, et al. "Rapid and sensitive detection of anti-SARS-CoV-2 IgG using lanthanide-doped nanoparticles-based lateral flow immunoassay" *Analytical Chemistry*, vol. 92, no. 10, pp. 7226-7231, May 2020, doi: 10.1021/acs.analchem.0c00784

[19] Web del Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). https://www.csic.es/es/actualidad-del-csic/dos-proyectos-del-csic-obtienen-financiacion-europea-urgente-para-investigar-el

[20] K. H. Ching, "Lateral Flow Immunoassay" *Methods in Molecular Biology*, vol. 1318, pp. 127-137, 2015, doi: 10.1007/978-1-4939-2742-5_13

[21] Z. Chen, P. Li, Z. Zhang, X. Zhai, J. Liang, Q. Chen, et al. "Ultrasensitive Sensor Using Quantum Dots-Doped Polystyrene Nanospheres for Clinical Diagnostics of Low-Volume Serum Samples" *Analytical Chemistry*, vol. 91, no. 9, pp. 5777-5785, May 2019, doi: 10.1021/acs.analchem.9b00010

[22] M. J. E. Fischer, "Amine coupling Through EDC/NHS: A practical approach" *Methods in Molecular Biology*, vol. 627, pp. 55-73, 2010, doi: 10.1007/978-1-60761-670-2_3

[23] Web de la Organización Mundial de la Salud (OMS). https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019 (Consultada el día 25 Mayo 2020).

Rocío Piñero Pérez, recibió el título de Graduada en Bioquímica por la Universidad de Sevilla y Málaga en 2019 y actualmente cursa el máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide, y ejecutará su trabajo fin de máster y sus prácticas en el Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD).

Andrés Lara Rodríguez, recibió el título de Graduado en Bioquímica por la Universidad de Sevilla y Málaga en 2019 y actualmente cursa el máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide, y ejecutará su trabajo fin de máster y sus prácticas en el Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD).

Uso de nanopartículas en el tratamiento del lupus eritematoso sistémico

Paula Cilleros Holgado, Rubén Jurado Escobar

Resumen—El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad autoinmune crónica sistémica que afecta a todos los órganos y sistemas del cuerpo humano. Existen diversas estrategias farmacológicas para su tratamiento, la mayoría de ellas basadas en la reducción de la inflamación característica de la patología. Sin embargo, presentan múltiples efectos secundarios y solo reducen levemente la sintomatología, por lo que la aplicación de nanopartículas mejoraría la eficacia terapéutica y conseguiría reducir dichos efectos adversos.

Palabras Claves— Lupus eritematoso sistémico, Nanopartículas, Nanogeles, Nanomedicina.

1. Introducción

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune crónica multisistémica, caracterizada por la pérdida de tolerancia a los autoantígenos y la producción de numerosos autoanticuerpos, con deposición de los complejos antígeno-anticuerpo y el consecuente daño a los órganos y tejidos [1].

Sus manifestaciones clínicas son complejas, presentando una gran cantidad de síntomas como fatiga, artralgias y úlceras orales, así como enfermedades renales, hematológicas y neurológicas potencialmente mortales. La presentación de estos síntomas varía con los períodos de brote y remisión, una característica muy particular de esta patología [2].

La fisiopatología del lupus eritematoso sistémico no se conoce complementamente, pero generalmente involucra a casi todos los órganos y tejidos, principalmente riñones, pulmones, vasculatura, piel e incluso cerebro [3].

Las células B son las principales implicadas en la patogénesis del LES debido a la secreción de una gran cantidad de autoanticuerpos. El desequilibrio en la red de citoquinas, fundamentalmente del eje IL-10/IL-12 y el exceso de producción de IFN-α juegan un papel clave en las respuestas inmunes celulares defectuosas de los pacientes con LES [4, 5].

Otras irregularidades que dan lugar al desarrollo de la enfermedad son: la desregulación de los sistemas inmunes innato y adaptativo, la producción de interferón tipo I, la eliminación de los complejos inmunes por los fagocitos, la apoptosis defectuosa, la producción elevada de citoquinas proinflamatorias y las células T disfuncionales [6, 7]. Además, se ha observado una mayor cantidad de células T auxiliares foliculares (Tfh) en pacientes con lupus eritematoso sistémico, siendo estas células esenciales para la maduración de células B y la producción de inmunoglobulinas después de la inmunización con antígenos dependientes del timo y la posterior formación de respuestas de anticuerpos de larga duración [8, 9].

Además, diversos estudios han demostrado que los pacientes de diferentes etnias muestran una asociación de HLA DR2, HLA-DRB1 y DR2 con el lupus eritematoso sistémico, teniendo un riesgo relativo para el desarrollo de la enfermedad de 2 a 5 veces mayor que las etnias con otra combinación de alelos [10].

Por otra parte, los factores ambientales también juegan un papel crucial en el desarrollo de la enfermedad, ya que se ha observado una fuerte asociación entre la incidencia de LES y determinados factores ambientales como tabaquismo, anticonceptivos orales o terapia hormonal postmenopaúsica [11]. Otros factores como la contaminación del aire, la luz ultravioleta, agentes infecciosos, vacunas, aumento de estrés oxidativo, fármacos como la procainamida o la hidralazina o la inflamación sistémica también están relacionados con el desarrollo de esta enfermedad [12].

Con respecto al tratamiento, las estrategias más comunes incluyen AINEs (antiinflamatorios no esteroideos), medicamentos antipalúdicos y glucocorticoides orales en combinación con agentes inmunosupresores como azatioprina, microfenolato de mofetilo, ciclofosfamida, ciclosporina y metotrexato [2, 13].

También se utiliza la inmunoterapia dirigida con diversas estrategias como anticuerpos monoclonales anti-CD22, inhibidores específicos de BLyS, CTLA-4Ig o anticuerpos contra CD40 o CD40L [14, 15].

Sin embargo, estas estrategias no conducen a la cura de la enfermedad y presentan múltiples efectos secundarios, por lo que es necesario el desarrollo de una terapia alternativa que permita una terapia más específica y con me-

Paula Cilleros Holgado y Rubén Jurado Escobar. Máster en Biotecnología Sanitaria. Universidad Pablo de Olavide.

nos efectos secundarios. Aquí es donde entran en juega las nanopartículas.

2. Nanopartículas

Las nanopartículas han sido ampliamente estudiadas para mejorar la eficacia terapéutica en muchas patologías, entre ellas las enfermedades autoinmunes [16].

Se caracterizan como materiales que tienen aproximadamente 10-1000 nanómetros de diámetro, el cual afecta a su actividad biológica, como la interacción con el sistema reticuloendotelial, las propiedades adyuvantes y la fagocitosis [17, 18].

La aplicación de las nanopartículas en el tratamiento de las patologías aumenta la solubilidad de los fármacos poco solubles y puede facilitar su administración, prevenir la resistencia a los medicamentos, dirigir el fármaco a su sitio de acción, mejorar la transcitosis a través de células epiteliales y barreras endoteliales, administrar dos o más fármacos al mismo tiempo y rastrear la región de suministro de estos fármacos [19, 20].

Los nanomateriales tienen una tendencia natural a acumularse en los tejidos inflamados y/o pueden atacar activamente mediante la conjugación de receptores o ligandos específicos [21].

Existen varios tipos de nanopartículas, por ejemplo, dendrímeros, fulerenos, micelas, liposomas, partículas similares a virus (VLP), etc [22].

La aplicación de nanopartículas permite desarrollar y optimizar el tratamiento de enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico, con la capacidad de superar muchos de los enfoques y terapias actuales ya que, dado que en muchos casos las dianas de los fármacos se distribuyen ampliamente en todo el organismo, los agentes biológicos no son capaces de lograr una alta eficacia terapéutica y pueden dar lugar a efectos adversos graves [23].

La nanomedicina, por tanto, podría proporcionar el enfoque terapéutico ideal para un suministro dirigido del fármaco/medicamento a un órgano o célula específico y la aparición de efectos adversos más bajos [24].

2.1. Uso de nanopartículas en el lupus eritematoso sistémico

Se han realizado diferentes ensayos para evaluar distintas formas de tratamiento del lupus eritematoso sistémico, entre ellas, enfoques basados en nanopartículas.

El sistema de administración de fármacos a través de nanopartículas tendría la capacidad de administrar selectivamente inmunosupresores a las células inmunes autorreactivas, modulando el sistema inmune hiperactivo, base de la fisiopatología de la enfermedad [25].

Los ARN pequeños de interferencia (siRNA) pueden "silenciar" la expresión de genes específicos con secuencias complementarias. Es por ello que éstos conjugados con lípidos o encapsulados en liposomas se acumulan en el hígado y silencian a los genes diana [26].

El microRNA miR-146a se dirige a varios componentes de la via de señalización del interferón γ y actúa como un regulador negativo de esta vía. La regulación negativa de este miRNA contribuye a alteraciones en la vía del IFN tipo I en pacientes con LES y puede constituir una estrategia novedosa para su tratamiento. El tratamiento de ratones modelo propensos al lupus con VLP MS2-miR146a redujo la producción de citoquinas proinflamatorias, autoanticuerpos e IgG total, mejorando la fisiopatología de la enfermedad [27].

Por otra parte, Shimizu et al. mejoraron el daño renal en un modelo de ratón de nefritis lúpica utilizando nanoportadores cargados con siRNA complejados con polímeros de polietilenglicol-poli-L-lisina. El complejo siRNA/nanoportador de la proteína MAPK1 se usó en un modelo de glomerulonefritis para suprimir la expresión de proteínas y mRNA de MAPK1 en un modelo de ratón. De esta forma, se mejoró la función renal, se disminuyó la proteinuria y se mejoró la esclerosis glomerular [28]. Esta técnica podría ser, por consiguiente, una posible estrategia candidata para el tratamiento futuro de enfermedades renales como la nefritis lúpica o el daño renal que se produce en el lupus eritematoso sistémico.

Por otra parte, Look et al. usaron nanopartículas para administrar medicamentos inmunosupresores a las células dendríticas (Figura 1) a través de una nueva formulación de nanopartículas denominadas "nanolipogeles" en el LES. Probaron el efecto inmunosupresor del ácido micofenólico por un sistema de entrega en nanogel, encapsulando dicho ácido dentro de nanogeles. Los experimentos *in vivo,* en modelos de ratón propensos al lupus tratados con estos nanogeles, demostraron una mejor supervivencia de los ratones y un retraso en la aparición de daño renal [29]. Además, este tramiento reveló una supresión más fuerte de la producción de citoquinas proinflamatorias, así como de la activación de células T, los niveles de IL-12, IFN-γ y TNF-α, todos ellos marcadores de inflamación [29].

Michael et al. examinaron materiales biodegradables y nanoparticulados dirigidos contra las células T $CD4^+$ para la administración de fármacos inmunosupresores y demostraron la eficacia terapéutica de los nanogeles con ácido micofenólico, ya que éstos posponían la progresión de la enfermedad y mejoraban la supervivencia de los ratones modelo, además de un fenotipo inflamatorio reducido [30, 31].

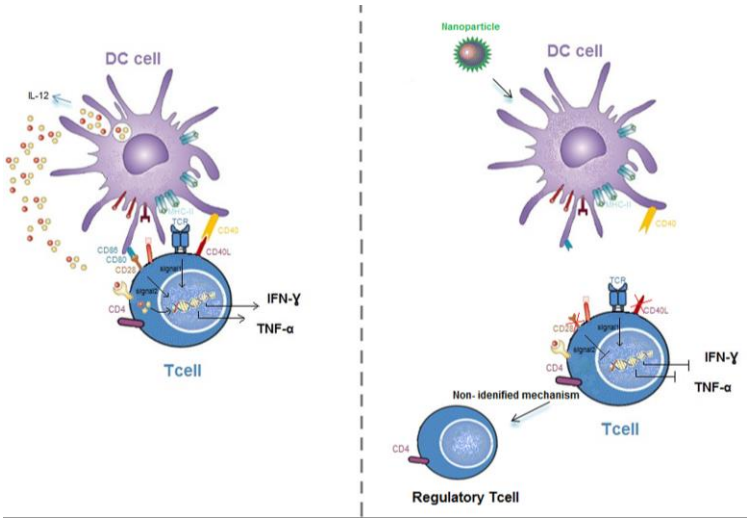


Fig. 1. Se observan los enfoques terapéuticos basados en nanopartículas en la modulación de las células inmunes. Después de internalizar las nanopartículas, las células dendríticas mostraron una expresión superficial disminuida de CD40, CD80, CD86, MHC clase I y MHC clase II y tuvieron una producción reducida de citoquinas proinflamatorias. Además, cuando las células T $CD4^+$ se cultivaron con estas células dendríticas exhibieron una baja capacidad proliferativa y una diferenciación aumentada en células T reguladoras [30].

Por otra parte, se utilizaron nanopartículas lipídicas para administrar selectivamente siRNA Kv1.3 en células T efectoras de memoria. Los Kv1.3 son canales que facilitan la entrada de Ca^{2+} en las células T y se encuentran sobreexpresados en el lupus eritematoso sistémico. Este tratamiento mostró una mayor supervivencia en un modelo de primates no humanos *in vitro* [32, 33, 34]. Además, el depósito renal de complejos antígeno-anticuerpo que contienen IgG anti-dsDNA conduce a nefritis y, por tanto, la activición del complemento es un rasgo común en pacientes con LES [24, 25].

Kendra et al. utilizaron nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro unidas a la región iC3b/C3d del receptor del complemento tipo 2 para detectar iC3b/C3d unido a tejidos para controlar la actividad de la enfermedad en modelos de ratón. A estos ratones se les inyectaron las nanopartículas dirigidas a CR2 en diferentes períodos de edad y se demostró que estas nanopartículas causaban una reducción en el tiempo de relajación T2 en la corteza y médula de los riñones de los ratones, pero no en los ratones control, siendo el tratamiento más efectivo que los convencionales [35].

5. Conclusiones

El lupus eritematoso sitémico es una enfermedad autoinmune crónica multisistémica muy limitante que afecta a la calidad de vida de las personas que lo sufren.

La inflamación es una de las principales características de las enfermedades autoinmunes y la capacidad de tratar dicha inflamación es crucial para reducir las complicaciones asociadas. Sin embargo, los tratamientos comercializados actualmente para el tratamiento del lupus eritematoso sistémico producen una leve mejora de la sintomatología y muestran diversos efectos secundarios de gravedad, siendo necesario el desarrollo de otras estrategias para su tratamiento.

La aplicación de nanopartículas ha demostrado ser eficiente en el tratamiento, ya que mejora la superviviencia y reduce los síntomas característicos de la enfermedad, además de disminuir los efectos secundarios de los fármacos convencionales. Entre sus ventajas se encuentran una estabilidad mejorada, perfiles de biodistribución favorables, cinética de liberación del fármaco más lenta, menor inmunotoxicidad, mejora de la resistencia a los medicamentos y administración específica y selectiva de fármacos al tejido inflamado, disminuyendo de esta manera la cantidad de medicamento utilizado y, por tanto, sus efectos secundarios.

No obstante, en la actualidad, ningún enfoque terapéutico de nanomedicina ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento de lupus eritematoso sistémico, pero tienen una gran importancia ya que los sistemas de administración de fármacos basados en nanopartículas que administran selectivamente fármacos al tejido inflamado o a células específicas mejoran significativamente el suministro de las terapias al organismo.

En conclusión, es necesaria una mayor investigación que permita evaluar la toxicidad y seguridad de las terapias basadas en nanopartículas y ser aprobados por la FDA para mejorar la calidad de vida de los pacientes y disminuir los múltiples efectos secundarios que presentan los fármacos convencionales.

Referencias

[1] C. Mok, C. Lau. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. J. Clin. Pathol., 56 (7) (2003), pp. 481-490

[2] W. Xiong, R.G. Lahita. Pragmatic approaches to therapy for systemic lupus erythematosus. Nat. Rev. Rheumatol., 10 (2) (2014), pp. 97-107

[3] G.C. Tsokos, G.M. Kammer. Molecular aberrations in human systemic lupus erythematosus. Mol. Med. Today, 6 (11) (2000), pp. 418-424

[4] J. Tyrrell-Price, P.M. Lydyard, D.A. Isenberg. The effect of interleukin-10 and of interleukin-12 on the in vitro production of anti-double-stranded DNA antibodies from patients with systemic lupus erythematosus. Clin. Exp. Immunol., 124 (1) (2001), pp. 118-125

[5] S.A. Apostolidis, L.A. Lieberman, K. Kis-Toth, J.C. Crispín, G.C. Tsokos. The dysregulation of cytokine networks in systemic lupus erythematosus. J. Interferon Cytokine Res., 31 (10) (2011), pp. 769-779

[6] B. Hahn. The Pathogenesis of SLE, Dubois' Lupus Erythematosus and Related Syndromes. (8th ed.), Elsevier Saunders, Philadelphia (2013), pp. 25-34

[7] L. Ronnblom, G.V. Alm, M.-L. Eloranta. The type I interferon system in the development of lupus. Seminars in Immunology, Elsevier (2011), pp. 113-121

[8] JD. Yu, C.G. Vinuesa. The elusive identity of T follicular helper cells. Trends

Immunol., 31 (10) (2010), pp. 377-383.

[9] N. Simpson, P.A. Gatenby, A. Wilson, S. Malik, D.A. Fulcher, S.G. Tangye, H. Manku, T.J. Vyse, G. Roncador, G.A. Huttley. Expansion of circulating T cells resembling follicular helper T cells is a fixed phenotype that identifies a subset of severe systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheumatism, 62 (1) (2010), pp. 234-244.

[10] S.Y. Bang, J.Y. Choi, S. Park, J. Choi, S.J. Hong, H.S. Lee, C.B. Choi, S.C. Bae. Brief report: influence of HLA?DRB1 susceptibility alleles on the clinical subphenotypes of systemic lupus erythematosus in Koreans. Arthritis Rheumatol., 68 (5) (2016), pp. 1190-1196

[11] M. Barbhaiya, K.H. Costenbader. Environmental exposures and the development of systemic lupus erythematosus. Curr. Opin. Rheumatol. (2016).

[12] A. Bengtsson, L. Rönnblom. Systemic lupus erythematosus: still a challenge for physicians. J. Intern. Med. (2016)

[13] B. Dema, N. Charles. Advances in mechanisms of systemic lupus erythematosus. Discov. Med., 17 (95) (2014), pp. 247-255.

[14] W. Huang, J. Sinha, J. Newman, B. Reddy, L. Budhai, R. Furie, A. Vaishnaw, A. Davidson. The effect of anti-CD40 ligand antibody on B cells in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheumatism, 46 (6) (2002), pp. 1554-1562.

[15] A.Y. Hoi, G.O. Littlejohn. Abatacept in the treatment of lupus. Expert Opin. Biol. Ther., 12 (10) (2012), pp. 1399-1406.

[16] S. Dolati, S. Sadreddini, D. Rostamzadeh, M. Ahmadi, F. Jadidi-Niaragh, M. Yousefi. Utilization of nanoparticle technology in rheumatoid arthritis treatment. Biomed. Pharmacother., 80 (2016), pp. 30-41.

[17] R. Stevenson, A.J. Hueber, A. Hutton, I.B. McInnes, D. Graham. Nanoparticles and inflammation. Sci. World J., 11 (2011), pp. 1300-1312.

[18] M. Hosseini, M. Haji-Fatahaliha, F. Jadidi-Niaragh, J. Majidi, M. Yousefi. The use of nanoparticles as a promising therapeutic approach in cancer immunotherapy. Artificial Cells Nanomed. Biotechnol., 44 (4) (2016), pp. 1051-1061.

[19] O.C. Farokhzad, R. Langer. Impact of nanotechnology on drug delivery. ACS Nano, 3 (1) (2009), pp. 16-20.

[20] J. Shi, A.R. Votruba, O.C. Farokhzad, R. Langer. Nanotechnology in drug delivery and tissue engineering: from discovery to applications. Nano Lett., 10 (9) (2010), pp. 3223-3230.

[21] X. Clemente-Casares, P. Santamaria. Nanomedicine in autoimmunity. Immunol. Lett., 158 (1) (2014), pp. 167-174.

[22] D.M. Smith, J.K. Simon, J.R. Baker Jr.. Applications of nanotechnology for immunology. Nat. Rev. Immunol., 13 (8) (2013), pp. 592-605.

[23] D.A. Fox. Biological therapies: a novel approach to the treatment of autoimmune disease. Am. J. Med., 99 (1) (1995), pp. 82-88.

[24] F. Yuan, G.M. Thiele, D. Wang. Nanomedicine development for autoimmune diseases. Drug Dev. Res., 72 (8) (2011), pp. 703-716.

[25] M.M. Schwartz. The pathology of lupus nephritis. Seminars in Nephrology, Elsevier (2007), pp. 22-34.

[26] T.S. Zimmermann, A.C. Lee, A. Akinc, B. Bramlage, D. Bumcrot, M.N. Fedoruk, J. Harborth, J.A. Heyes, L.B. Jeffs, M. John. RNAi-mediated gene silencing in non-human primates. Nature, 441 (7089) (2006), pp. 111-114.

[27] Y. Tang, X. Luo, H. Cui, X. Ni, M. Yuan, Y. Guo, X. Huang, H. Zhou, N. de Vries, P.P. Tak. MicroRNA-146a contributes to abnormal activation of the type I interferon pathway in human lupus by targeting the key signaling proteins. Arthritis Rheumatism, 60 (4) (2009), pp. 1065-1075.

[28] H. Shimizu, Y. Hori, S. Kaname, K. Yamada, N. Nishiyama, S. Matsumoto, K. Miyata, M. Oba, A. Yamada, K. Kataoka. siRNA-based therapy ameliorates glomerulonephritis. J. Am. Soc. Nephrol., 21 (4) (2010), pp. 622-633.

[29] M. Look, W.M. Saltzman, J. Craft, T.M. Fahmy. The nanomaterial-dependent modulation of dendritic cells and its potential influence on therapeutic immunosuppression in lupus. Biomaterials, 35 (3) (2014), pp. 1089-1095.

[30] M.W. Look, E. Stern, Q. Wang, L. DiPlacido, J.E. Craft, T.M. Fahmy. Lupus immunotherapy using CD4 targeted nanoparticles. J. Immunol., 182 (Meeting Abstracts 1) (2009) (48.29).

[31] M. Look, E. Stern, Q.A. Wang, L.D. DiPlacido, M. Kashgarian, J. Craft, T.M. Fahmy. Nanogel-based delivery of mycophenolic acid ameliorates systemic lupus erythematosus in mice. J. Clin. Invest., 123 (4) (2013), p. 1741.

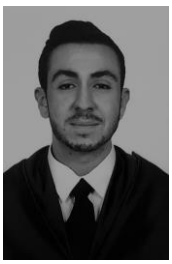
[32] S. Sakaguchi, M. Ono, R. Setoguchi, H. Yagi, S. Hori, Z. Fehervari, J. Shimizu, T. Takahashi, T. Nomura. Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. Immunol. Rev., 212 (1) (2006), pp. 8-27.

[33] S. Sakaguchi, T. Yamaguchi, T. Nomura, M. Ono. Regulatory T cells and immune tolerance. Cell, 133 (5) (2008), pp. 775-787.

[34] J. Park, W. Gao, R. Whiston, T.B. Strom, S. Metcalfe, T.M. Fahmy. Modulation of CD4+ T lymphocyte lineage outcomes with targeted, nanoparticle-mediated cytokine delivery. Mol. Pharm., 8 (1) (2010), pp. 143-152.

[35] K.M. Hasebroock, N.J. Serkova, S.A. Sargsyan, B. Renner, B. Larsen, C. Stoldt, V.M. Holers, J.M. Thurman. Non-invasive assessment of disease activity in a model of lupus nephritis using complement receptor-2 conjugated to superparamagnetic iron oxide nanoparticles. Mol. Immunol., 47 (13) (2010), p. 2292.

Paula Cilleros Holgado recibió el título de Graduada en Bioquímica por la Universidad de Sevilla y Málaga en 2019 y actualmente cursa el máster en Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide. Realizará las prácticas del máster y su trabajo fin de máster en el Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD).



Rubén Jurado Escobar recibió el título de Graduado en Bioquímica por la Universidad de Sevilla y Málaga en 2019 y actualmente cursa el máster en Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide. Realizará las practicas del máster y su trabajo fin de máster en el Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD).

La radiactividad ambiental. Algunos ejemplos en las esferas de la Tierra.

Pablo Pacheco Domínguez

Resumen—La radiactividad es la emisión espontánea de partículas o radiación electromagnética y su origen puede ser natural o antropogénico. En este artículo se recopilan varios ejemplos de investigaciones recientes en radiactividad ambiental en aguas, atmósfera y suelo, para mostrar sucintamente la amplia distribución de la radiación a que nos exponemos, acompañado de algunos conceptos clave. Se tratan los casos del yodo y el radio en aguas, la evolución estacional y la contaminación industrial de la atmósfera y una muestra del ecosistema mediterráneo.

Palabras Claves— Agua, Ambiental, Atmósfera, Radiactividad, Suelo.

1. Introducción

La radiactividad es la emisión espontánea, natural, de partículas o radiación electromagnética desde un núcleo atómico. No fue una invención, sino un descubrimiento de hace más de cien años, por Henri Becquerel. La radiactividad de algunos átomos, llamados núcleos padre, puede ser de tres tipos: α (emisión de un átomo de $_2He^4$), β (emisión de un electrón o un positrón), γ (emisión de fotones, que acompaña a las anteriores). En todos los ambientes hubo, hay y habrá radionúclidos emitiendo radiactividad, siendo la de origen natural el 87% y la de origen artificial el 13% del total, principalmente de tratamientos médicos [1].

Antes de mostrar los ejemplos, hay que recordar algunos conceptos básicos de radiactividad: conocemos como actividad al nº de núcleos que se desintegran por unidad de tiempo; su unidad es el becquerelio (1Bq = 1 desintegración · s^{-1}). Por otra parte, conocemos como dosis absorbida la cantidad de energía que una radiación, sea cual sea, deposita en una unidad de masa; su unidad es el gray (1Gy = 1 J · kg^{-1}). El efecto de 1 Gy en un organismo vivo depende del tipo de radiación ionizante, por lo que para considerarlo, se establece para el ser humano la dosis equivalente con el sievert (1 Sv = 1 Gy · w_R), siendo w_R un factor de peso que tiene en cuenta el efecto sobre el ser humano (tabla 1). Por tanto, el sievert mide el efecto sobre la salud de los bajos niveles de radiación ionizante en el cuerpo humano.

Tabla 1.
Factores de peso para distintas radiaciones ionizantes existentes en radiactividad ambiental. (Adaptada de [1])

Radiación	w_R
Rayos γ	1
Electrones	1
Partículas α	20

Pablo Pacheco Domínguez. Centro de Estudios de Postgrado (Universidad Pablo de Olavide).ppacdom@alu.upo.es

2. Ejemplos de posible peligro radiológico en las esferas de la Tierra

2.1. Aguas contaminadas: los casos del yodo [2] y del radio [3]

El yodo es un oligoelemento esencial para los seres vivos. Pero también la acumulación excesiva de ^{131}I en la glándula tiroidea puede conducir a un posible tumor, por lo que se necesitan procedimientos eficaces destinados a cuantificar los niveles de ^{131}I en el agua. Su periodo de semidesintegración ($t_{1/2}$) es de 8.04 días, su presencia en este medio suele ser baja, y normalmente el origen radica en efluentes de centrales nucleares u hospitales [2].

Debido a que la monitorización requiere pruebas repetitivas (mismo procedimiento, misma muestra, mismo operador, intervalos cortos de tiempo, mismo equipamiento, mismo laboratorio; todo ello para limitar al máximo la variabilidad con que puede venir afectado el desarrollo de un método de ensayo), hay que optimizar el procedimiento para obtener el límite de detección más bajo, con una preparación rápida, al menor coste y que no utilice productos químicos peligrosos [2]. La espectrometría gamma directa es el método más rápido y barato, pero la actividad mínima detectable suele ser cercana o superior al valor que se mide. Como alternativa, se emplea la separación radioquímica con una resina de intercambio iónico, que logra la separación de más del 90%; es una técnica lo suficientemente precisa y presenta un límite de detección menor, pero es más cara y utiliza productos peligrosos [2].

Sobre el otro caso a tratar, hay que señalar que el radio (^{226}Ra) es uno de los isótopos más radiotóxicos, tiene un $t_{1/2}$ de 1602 años, y su presencia en el agua potable puede suponer un peligro radiológico. Además, es un importante contribuyente a la Dosis Indicativa (ID), esto es, *la dosis efectiva comprometida por un año de ingesta debida a todos los radionucleidos cuya presencia se haya detectado en una fuente de abastecimiento de agua destinada al consumo humano, ya sean de origen natural o artificial, excluidos el tritio, el potasio-*

40, el radón y los productos de desintegración del radón de vida corta. Es por esto que la Unión Europea ha legislado sobre la cuestión en la Directiva Europea 2013/51/ EURATOM, relativa a los requisitos de protección de la salud del público general con respecto a las sustancias radiactivas en el agua destinada al consumo humano [4].

Como medida preventiva para evitar que llegue al consumidor final o se acumule en las tuberías de distribución de agua, se aconseja su eliminación en las estaciones de tratamiento de agua potable (ETAP). Un sistema muy eficiente, como el que se muestra en la Fig. 1, es la filtración basada en arena verde, que contiene glauconita natural (mineral, MnO_2) para oxidar y precipitar los iones. La efectividad de la remoción depende de la velocidad a la que el agua pasa a través del filtro, y puede alcanzarse el 100% de remoción. A menor velocidad, mayor tiempo de contacto, y mayor porcentaje de eliminación se logra. Pero entonces la acumulación de radio en el filtro supondría un peligro radiológico para el personal de la ETAP. Un estudio de la Universidad de Extremadura evaluó el peor de los casos posibles y registró una exposición de 0.22 mSv/año, que es un valor significativamente menor que la referencia de 1 mSv/año. El ensayo se realizó en una planta que suministra agua a unas 800 personas. El radio acumulado en el filtro de arena verde puede extraerse para facilitar la gestión de residuos, y posteriormente, puede regenerarse mostrando una capacidad de extracción de radio similar a la de un filtro nuevo.

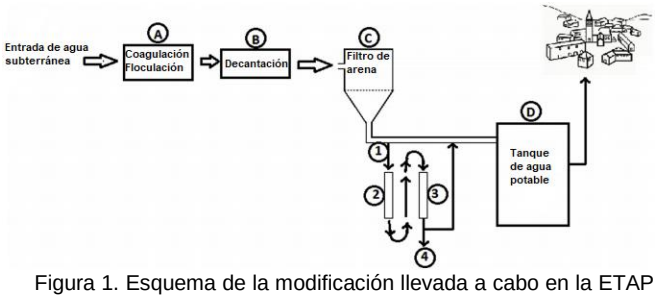


Figura 1. Esquema de la modificación llevada a cabo en la ETAP para insertar el filtro. Las letras A-D designan el procedimiento rutinario y los números 1-4, la modificación para la remoción de radio en columna. (Modificado de [3])

2.2. Atmósfera: casos de evolución estacional [5] y contaminación industrial [6]

Los radionucleidos cosmogénicos, como son $^{7,10}Be$ ($t_{1/2}$ de 53.22 días y 1.39 millones de años, respectivamente) y ^{22}Na ($t_{1/2}$ de 2605 años), proporcionan información sobre los intercambios de masas de aire entre la estratosfera y la troposfera, lo que permite que se utilicen como indicadores. Estos radionucleidos son generados por la espalación (esto es, un cuerpo emite fragmentos debido a un impacto) de rayos cósmicos (protones muy energéticos, del exterior del Sistema Solar) con elementos ligeros (C, O, N, Ar). La concentración de ^{7}Be en aerosoles suele mostrar una variabilidad estacional, que no aleatoria, dependiendo también de las condiciones climáticas (lluvias y radiación solar, principalmente). El ^{10}Be es escaso en aerosoles pero está presente en muestras de hielo, nieve y sedimentos, y su concentración puede medirse como indicador de la actividad solar, permitiendo la reconstrucción de climas pasados. ^{7}Be y ^{22}Na presentan la misma variación estacional, frecuencia anual y mayor cantidad en estaciones cálidas. La lluvia y la radiación solar se toman en consideración en modelos basados en correlaciones lineales múltiples, como el de la siguiente ecuación (1):

$$\frac{A(t+\Delta t)-A(t)}{\Delta t} = k_1 R(t) - k_2 P(t) A(t) - k_3 A(t) \qquad (1)$$

Donde A es actividad del radionúclido (Bq/m^3), a tiempo t y t+Δt; Δt es el tiempo transcurrido; R(t) es la radiación solar acumulada semanalmente (kJ/m^2); P(t) es la lluvia acumulada semanalmente (mm); k_1, k_2 y k_3 son parámetros de ajuste (estimación de la generación de radionúclidos cosmogénicos en la atmósfera, efecto limpiador de la lluvia, y deposición seca y decaimiento físico, respectivamente).

Por otra parte, algunos radionucleidos que se pueden encontrar en la atmósfera tienen también un origen antropogénico. Los combustibles utilizados en las centrales eléctricas de carbón tienen diferentes concentraciones de radionucleidos naturales, principalmente pertenecientes a las series de decaimiento del uranio y el torio, dependiendo de su origen. El proceso de combustión genera como subproductos cenizas y compuestos volátiles, enriquecidos en radionucleidos. Y lo preocupante es que parte de estas actividades pueden incorporarse a la atmósfera con el funcionamiento normal de estas plantas. La solución principal que se ha venido tomando es emplear las cenizas generadas en la fabricación de cemento, pero también se ha optado por acumularlas en estanques. Por estas razones, se debe evaluar la salud radiológica y el impacto de los radionucleidos naturales emitidos en la atmósfera y de los enormes depósitos de ceniza resultantes de la operación de estas centrales eléctricas.

Para la determinación de los niveles de radionucleidos emisores de rayos gamma en suelos el contenedor de plástico debe ser sellado para evitar las pérdidas de la emanación de $^{220,222}Rn$ y debe esperarse que alcance el equilibrio secular entre $^{220,222}Rn$ y sus hijas. El equilibrio secular es el equilibrio radiactivo en que la relación de las actividades es igual a la unidad; para que exista es necesario que el período de semidesintegración del precursor sea muy largo (ver Fig. 2). Para solucionar esto, se puede optar por técnicas de espectrometría gamma *in situ*, más baratas, rápidas y con métodos razonablemente precisos; pero es difícil determinar con exactitud la distribución geométrica de radionucleidos.

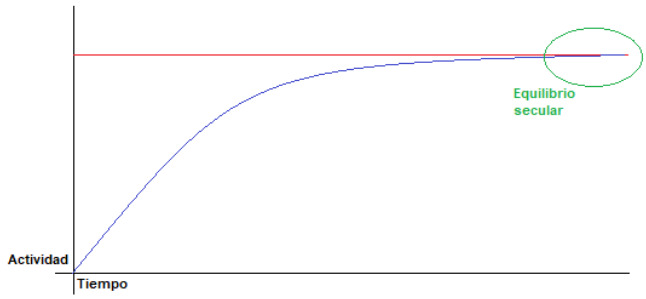


Figura 2. Gráfica del equilibrio secular, en que el núcleo padre presenta mucha mayor estabilidad que el hijo y, tras un tiempo, en ambos se observa la misma actividad. (Elaboración propia)

Científicos del Laboratorio de Radiactividad Ambiental - LARUEX -, ejecutaron en Teruel un estudio comparativo de técnicas *in situ* y de laboratorio para estimar la capacidad real de la técnica *in situ* en la caracterización radiológica de este tipo de industria, y evaluaron el peligro radiológico debido a la presencia de estanques de cenizas [6]. Así, observaron una buena correspondencia en las mediciones de ^{226}Ra, ^{232}Th, una incertidumbre aceptable para medir ^{214}Pb y ^{214}Bi, pero no en las mediciones de ^{40}K. La radiación de la industria contribuye con hasta 0.7 mSv/año, aunque el impacto se circunscribe al área cercana a la fuente.

2.3. Suelos: muestra del ecosistema mediterráneo [7]

La incorporación de radionucleidos en plantas es de gran importancia en cultivos utilizados para la alimentación humana. Normalmente preocupan más los radionucleidos antropogénicos en los productos alimenticios contaminados después de una emergencia nuclear; sin embargo, la absorción de radionucleidos naturales a través de los alimentos puede no ser insignificante. La buena noticia es que no todos los radionúclidos naturales presentes en el suelo pueden transferirse a la planta, ya que pueden formar parte de la fracción mineral. La fracción biodisponible de radionúclidos en un suelo se considera como la fracción capaz de ser transferida a los compartimentos biológicos dentro del ecosistema.

La solución del suelo (agua e iones disueltos) puede extraerse mediante adición de agua destilada y posterior centrifugación, o mediante el uso de un disco impregnado con una resina específica en contacto directo con el suelo. Para conocer mejor la asociación de los radionúclidos al suelo, se recomiendan métodos de extracción secuencial, que se basan en el uso sucesivo de reactivos con un poder extractivo/reemplazante cada vez mayor. El inconveniente es que los métodos varían utilizando diferentes reactivos para extraer la misma fracción, con diferentes concentraciones, tiempo de contacto y orden de aplicación, por lo que la interpretación de los datos de los métodos de extracción secuencial a veces puede ser difícil.

El equipo de LARUEX evaluó la especiación de los radionucleidos que se producen naturalmente ($^{234.238}$U, ^{226}Ra, ^{210}Po y $^{228.230.232}$Th) en tres tipos diferentes de suelo característicos de los ecosistemas mediterráneos. La mayoría de ellos estaban fuertemente ligados a las partículas del suelo, con lo que pueden considerarse como radionucleidos no móviles. Un resultado importante es que los dos métodos ensayados proporcionaron el mismo orden de extracción para los radionucleidos naturales:

Fácil biodisponible: ^{226}Ra > $^{234.238}$U > $^{228.230.232}$Th > ^{210}Po

Concluyeron que menos del 3% de los radionucleidos estaban fácilmente biodisponibles, y que más del 80% de estaban fuertemente adheridos a las partículas del suelo, por lo que el riesgo para la salud como consecuencia de su transferencia a la agricultura pueden considerarse insignificante. En los suelos arenosos y limosos, la ratio de isótopos era mayor, lo que podría sugerir que los enlaces de los radionucleidos hijos con las partículas del suelo son más débiles que los de sus predecesores como consecuencia del decaimiento radioactivo.

3. Conclusiones

Para terminar, primero quiero resaltar la necesidad de conocer, de aprender, para despojarnos de los miedos como el que la palabra 'radiactividad' nos infunde, porque, como hemos visto con estos ejemplos, la radiactividad es un fenómeno natural que nos acompaña desde siempre y no supone riesgo alguno para la vida, siempre que la vigilancia ambiental y la precaución se lleven a cabo adecuadamente. El peligro radiológico siempre está y convivimos con ello, aunque en bajas dosis, en todos los ambientes, y solo hay que conocerlo, monitorizarlo, prevenirlo y mitigarlo, y en esta línea debe seguir investigándose. Como decía Marie Curie, "no hay que temer nada en la vida; solamente comprenderlo. Ahora es el tiempo de comprender más, para temer menos".

Agradecimientos

El autor agradece a G. Oskam, J. J. Gutiérrez y J. A. Anta sus aportaciones para la realización de este trabajo.

Referencias

[1] R. Núñez-Lagos, "La radioactividad ambiental," *Revista Logos Ciencia & Tecnología*, vol. 2, no. 2, pp. 50-61, Ene/Jun 2011,

[2] A. Rodríguez, J.A. Corbacho, N. Dickson, E. Tovar, A. Baeza, "Performance analysis of different methods to determine ^{131}I in wáter samples for environmental monitoring," *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, vol. 317, no. 2, pp. 1071-1078. Aug 2018, doi: 10.1007/s10967-018-5933-y

[3] A. Baeza, A. Salas, J. Guillén, A. Muñoz-Serrano, J.A. Corbacho, "Removal of radium in a working drinking water treatment plant: Radiological hazard assessment and waste management," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 371, pp. 586-591, Jun 2019, doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.03.035

[4] Directiva 2013/51/Euratom del Consejo, de 22 de octubre de 2013, por la que se establecen requisitos para la protección sanitaria de la población con respecto a las sustancias radiactivas en las aguas destinadas al consumo humano. [Consultado el 17 de mayo de 2020] Disponible en: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=CELEX%3A32013L0051

[5] A. Rodríguez-Perulero, A. Baeza, J. Guillén, "Seasonal evolution of Be-7, Be-10 and Na-22 in the near Surface atmosphere of Cáceres (Spain)," *Journal of Environmental Radioactivity*, vol. 197, pp. 55-61, Feb 2019, doi: 10.1016/j.jenvrad.2018.11.015

[6] J.A. Corbacho, A. Baeza, "Measurement of natural radionuclides and external radiation exposure due to fly ash from a coal-fired power plant (Spain) deposited on soils. Comparison using two different measurement techniques," *Radiation Protection Dosimetry*, vol. 182, no. 4, pp. 419-426, Dec 2018, doi: 10.1093/rpd/ncy083

[7] J. Guillén, A. Muñoz-Serrano, A. Baeza, A. Salas, "Speciation of naturally occurring radionuclides in Mediterranean soils: bioavailabilty assessment," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, no. 7, pp. 6772-6782, Mar 2018, doi: 10.1007/s11356-017-1021-z

Pablo Pacheco Domínguez es estudiante del Máster en Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria en la Universidad Pablo de Olavide. Artículo realizado para la asignatura Química Ambiental Avanzada.

Causas antropogénicas del *bleaching* del coral

Reinaldo Sáez Moreno

Resumen—Una parte importante de la población humana depende, directa o indirectamente, de los arrecifes de coral para su supervivencia. Estos ecosistemas están estructurados alrededor de los corales, animales fijados al fondo marino que establecen simbiosis con algas unicelulares para su supervivencia. Pese a la importancia que tienen sobre la sociedad humana, hay múltiples actividades antrópicas que pueden desembocar en la ruptura de la relación endosimbiótica en lo que se conoce como aclaramiento o *bleaching* del coral. En esta revisión se analizan dos de los más importantes, la turbidez y el cambio climático, con el objetivo de informar sobre las causas de la desaparición de los ecosistemas coralinos.

Palabras Claves— Arrecife, *Bleaching*, Cambio Climático, Coral, Turbidez.

1. Introducción

Los arrecifes de coral son ecosistemas formados alrededor de los corales; pólipos sésiles, es decir, anclados al fondo marino, del *Phylum Cnidaria*. Su fuente de energía es la actividad fotosintética de una zooxantela endosimbiótica, cuya presencia y densidad de pigmentos primarios y complementarios son la fuente del color característico de los corales [1].

Además, los arrecifes de coral son uno de los ecosistemas con mayor biodiversidad del planeta, y el más diverso de los marinos [2]. Debido a sus características tiene un enorme valor económico en términos de protección de costas debido a su capacidad de absorber la energía de las olas, reduciendo así la tasa de erosión [2][3]. También tiene un gran valor asociado al turismo y a la obtención de alimentos y productos farmacéuticos, por lo que de ellos depende una gran parte de la población mundial [2][3].

Uno de los mayores problemas a los que se enfrentan los arrecifes de coral en la actualidad es el conocido como blanqueamiento o, más comúnmente, *bleaching*. Este proceso se debe a la ruptura de la relación endosimbiótica entre el coral y la zooxantela debido a la muerte o la deserción de esta última, lo que provoca la pérdida de la fuente de energía del coral y se observa cómo una pérdida de color en el pólipo [2]. Este fenómeno causa un aumento de la morbilidad y mortalidad del animal, lo que causa una pérdida de cobertura del coral, cambios dramáticos en la composición de la comunidad del ecosistema y reorganizaciones en las comunidades de peces asociadas a los arrecifes [2]. En los últimos veinte años ha habido tres eventos de *bleaching* a nivel global. El último, entre 2014 y 2017, acabó con miles de kilómetros cuadrados de comunidades arrecifales. Los modelos predicen que en ochenta años habrán desaparecido casi todos los arrecifes de coral tropicales [2].

Cabe destacar que, aunque gran parte del fenómeno del *bleaching* se debe a la actividad humana, en el pasado ha habido eventos masivos de extinción, que como muestra el registro geológico afectaron también a los corales. Uno de los más dramáticos es el ocurrido en el límite Frasniense/Fameniense, hace 372 millones de años, en el que desaparecieron casi todas las especies de coral a nivel planetario [4].

2. Causas y efectos de la turbidez

La actividad humana puede causar un aumento de la turbidez, esto es, la proporción de partículas sólidas en suspensión, en los medios litorales y en las plataformas continentales. Esto puede ocurrir de forma directa, por ejemplo, por trabajos de dragado de las costas; o de forma indirecta al modificar el equilibrio de erosión/depósito en las costas debido a, por ejemplo, la deforestación de la ribera o la construcción de embalses [1].

Se ha observado que este aumento de turbidez es muy nocivo para los corales. En el escenario más dramático, que conlleva el sepultamiento del coral al decantanse los materiales en suspensión sobre el fondo marino, la disponibilidad de oxígeno disminuye, el organismo entra en un régimen reductor debido a la anoxia y se observa una reducción del pH tisular, producción de ácido sulfhídrico y, finalmente, la muerte del coral [5].

Sin embargo, no es necesario que el coral quede enterrado para que el efecto de la turbidez sea deletéreo. Las partículas en suspensión absorben la radiación fotosintéticamente activa, lo que hace que las algas endosimbióticas no puedan llevar a cabo esta función y mueran o deserten, lo que significa la ruptura de la relación endosimbiótica y, por tanto, el *bleaching* [2][6].

La respuesta a la turbidez depende tanto de las especies de coral y la zooxantela que establezcan la simbiosis como del grado de turbidez [1]. Se ha observado que con una proporción de partículas en suspensión baja o moderada la respuesta conlleva un oscurecimiento del coral al aumentar la concentración de los pigmentos fotosintéticos del alga y variar la composición de estos, no observándose el fenómeno de aclaramiento hasta que la turbi-

Reinaldo Sáez Moreno, Centro de Estudios de Posgrado, Universidad Pablo de Olavide. heliosaez@gmail.com.

dez no alcanza rangos altos [1]. Cabe destacar que tras un evento de aumento de turbidez el coral tiene capacidad de volver a establecer la relación simbiótica y recuperarse, siempre y cuando esta disminución de la luz absorbible no se prolongue de forma excesiva en el tiempo [1][6]. Según estudios recientes [1][7], no se observan muertes de colonias completas para periodos de tiempo relativamente cortos (42 días), periodos aproximadamente similares a lo que suelen durar los trabajos de dragado en las zonas afectadas. Aún así, es importante apuntar que, aunque el coral pueda recuperarse del *bleaching*, aumenta su susceptibilidad a sufrir enfermedades y disminuye la riqueza ecológica del ecosistema [1][2][3].

3. Efectos del cambio climático

El aumento de la temperatura y de la concentración de dióxido de carbono atmosférico debido al cambio climático tienen efectos devastadores sobre la biosfera en general, y uno de los organismos en el que este efecto es más claro es el coral [2][3]. Se ha observado empíricamente que únicamente el incremento de la temperatura de la superficie marina provoca un aumento de la frecuencia y la intensidad de los eventos de *bleaching*, al afectar tanto al cnidario como al alga endosimbiótica [2]. Se ha observado también una ruptura de la relación simbiótica cuando la temperatura supera los máximos estivales por un grado centígrado durante un periodo de tres a cuatro semanas, incrementándose la intensidad de tanto el *bleaching* como de la tasa de mortalidad conforme las anomalías térmicas aumentan en intensidad y tiempo [3].

Es importante resaltar que no todos los arrecifes están igualmente expuestos a eventos de estrés térmico, sobre todo en regiones más próximas al ecuador donde la variación de temperatura estacional es menor y las comunidades coralinas tienen, por tanto, menos capacidad de aclimatación térmica [2]. También hay que recordar que existen fenómenos naturales, como El Niño, que varían las condiciones ambientales de los océanos de todo el planeta incrementando la temperatura de los océanos tropicales y favoreciendo los eventos de *bleaching*, fenómeno que se ha observado es sinérgico con el calentamiento global producto del cambio climático [2].

Sin embargo, el cambio climático no incluye únicamente el aumento de la temperatura oceánica. La actividad humana a partir de la revolución industrial ha aumentado los niveles de dióxido de carbono hasta las 380 ppm, valores superiores en 80 ppm a los registrados en los últimos 20 millones de años [3]. Aproximadamente un 25% de este CO_2 es capturado por los océanos al reaccionar con el agua para formar ácido carbónico, que a su vez se disocia para formar iones bicarbonato y protones que, de nuevo, reaccionan con iones carbonato para formar más bicarbonato en un ciclo de retroalimentación positiva, tal como se observa en las ecuaciones (1), (2) y (3) [3].

$$CO_2 + H_2O \Rightarrow HCO_3^- + H^+ \quad (1)$$

$$CaCO_3(coral) \Rightarrow Ca^{2+} + CO_3^{2-} \quad (2)$$

$$H^+(1) + CO_3^{2-}(2) \Rightarrow HCO_3^- \quad (3)$$

El carbonato de calcio ($CaCO_3$) degradado en estas reacciones es de suma importancia para el coral al ser el aragonito, su principal forma cristalina en entornos orgánicos, un componente integral de su esqueleto [3]. Es por este motivo que una disminución de la concentración de esta molécula en el agua oceánica está directamente relacionada con la disminución de la tasa de calcificación de organismos tales como los corales arrecíferos [3]. Al disminuir la tasa de calcificación del coral se observa una reducción, a su vez, de su tasa de extensión lineal; así como de la densidad de su esqueleto [2][3]. Mientras lo primero tiene un efecto directo sobre la capacidad de los arrecifes de recuperarse de un evento de *bleaching*, lo segundo afecta aumentando su susceptibilidad a la erosión, ya sea esta debido a tormentas o a la actividad de animales como el pez loro, que desgasta activamente los corales para alimentarse [3]. Este aumento de la erosión causa, a su vez, una disminución de la complejidad estructural del coral, lo que al estar ligado a su capacidad de absorber la energía tidal provoca un aumento de la tasa de erosión de la costa, lo que además de afectar directamente a la población que depende de ella aumenta los sedimentos en suspensión y, por tanto, la turbidez [1][2][3].

En condiciones fisiológicas, el coral invierte gran parte de su energía en la calcificación [3]. Al disminuir la concentración de $CaCO_3$, aumenta el requerimiento energético del coral para fijarlo en su esqueleto, lo que reduce la energía metabólica disponible para otros procesos esenciales, como puede ser la reproducción [3]. Esto afecta directamente a la capacidad del coral para recolonizar ambientes en los que se haya producido un evento de muerte masiva [1][3]. Este efecto es, además, sinérgico con el observado en condiciones de estrés crónico, en el que se disminuye la tasa de reproducción de casi todas las especies estudiadas, y para el que el coral no es una excepción [3].

Estos efectos no son homogéneos en todos los océanos, sino que varían regionalmente según sus características geológicas e hidrodinámicas. Regiones como el Mar Caribe o la Gran Barrera de Coral australiana alcanzarán mínimos peligrosos de concentración de carbonato cálcico más rápidamente que otras según modelos recientes [3].

Actualmente, las temperaturas son más cálidas que en ningún punto de la historia reciente (+0'7 ºC), mientras que el pH (-0'1) y la concentración de iones carbonato (-210 µmol/kg) en los océanos alcanzan su mínimo; datos que según todas las previsiones van a ir a peor [2][3]. Diversos estudios muestran que una duplicación de la concentración de CO_2 respecto a niveles preindustriales, a 560 ppm, reduciría las tasas de calcificación y de crecimiento de los corales a hasta un 40%, lo que acabaría con la mayor parte de ecosistemas arrecifales actuales [3][8]. Es notable la falta de registros fósiles de organismos calcificados durante el Triásico temprano, donde la concentración de CO_2 atmosférico alcanzó niveles 5 veces superiores a los actuales [3]. Por otro lado, la velocidad del incremento de la concentración de CO_2 es crítica, debido a que la

biosfera en general y los corales en particular no tienen la capacidad de adaptarse evolutivamente lo suficientemente rápido a los cambios que se están observando actualmente [3]. Finalmente, otros procesos que pueden contribuir al *bleaching* del coral, tales como procesos de eutrofización debido a vertidos de nutrientes o la sobreexplotación de caladeros pueden tener efectos sinérgicos y de retroalimentación con el cambio climático, incrementando así los efectos de este sobre los arrecifes [9].

4. Conclusiones

Tanto el coral como los arrecifes son organismos y ecosistemas muy delicados con una enorme importancia medioambiental y humana que pueden ser afectados por una gran cantidad de actividades antrópicas. Es por esto que es necesario establecer programas de protección ambiental para evitar su desaparición, pero ante todo resulta imperativo afrontar y frenar el cambio climático mediante un cambio radical de los modelos sociales.

Agradecimientos

A mis compañeros y compañeras de la asignatura Química Ambiental Avanzada, por su compañerismo y ayuda desinteresada sin los cuales este trabajo no hubiera alcanzado su estado actual.

Referencias

[1] Jones, R., Giofre, N., Luter, H. M., Neoh, T. L., Fisher, R., & Duckworth, A. (2020). Responses of corals to chronic turbidity. Scientific Reports, 10(1), 1–13. https://doi.org/10.1038/s41598-020-61712-w

[2] Sully, S., Burkepile, D. E., Donovan, M. K., Hodgson, G., & van Woesik, R. (2019). A global analysis of coral bleaching over the past two decades. Nature Communications, 10(1), 1–5. https://doi.org/10.1038/s41467-019-09238-2

[3] Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P. J., Hooten, A. J., Steneck, R. S., Greenfield, P., Gomez, E., … Hatziolos, M. E. (2007). Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. Science (New York, N.Y.), 318(5857), 1737–1742. https://doi.org/10.1126/science.1152509

[4] Copper, P. (2002). Reef development at the Frasnian/Famennian mass extinction boundary. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 181(1–3), 27–65. https://doi.org/10.1016/S0031-0182(01)00472-2

[5] Weber, M., De Beer, D., Lott, C., Polerecky, L., Kohls, K., Abed, R. M. M., … Fabricius, K. E. (2012). Mechanisms of damage to corals exposed to sedimentation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 109(24). https://doi.org/10.1073/pnas.1100715109

[6] Bessell-Browne, P., Negri, A. P., Fisher, R., Clode, P. L., Duckworth, A., & Jones, R. (2017). Impacts of turbidity on corals: The relative importance of light limitation and suspended sediments. Marine Pollution Bulletin, 117(1–2), 161–170. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.050

[7] Fisher, R., Stark, C., Ridd, P., & Jones, R. (2015). Spatial patterns in water quality changes during dredging in tropical environments. PLoS ONE, 10(12), 1–22. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143309

[8] Kleypas, J.A. y Langdon, C. (2013). Coral Reefs and Changing Seawater Carbonate Chemistry. En Coral Reefs and Climate Change: Science and Management (eds J.T. Phinney, O. Hoegh-Guldberg, J. Kleypas, W. Skirving and A. Strong). doi:10.1029/61CE06

[9] Newton, K., Côté, I. M., Pilling, G. M., Jennings, S., & Dulvy, N. K. (2007). Current and Future Sustainability of Island Coral Reef Fisheries. Current Biology, 17(7), 655–658. https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.02.054

Reinaldo Sáez Moreno se graduó en Biología por la Universidad de Sevilla en 2019, y tras una breve estancia en el Helmholtz Centre For Environmental Research, cursa actualmente el Máster en Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria. Sus intereses incluyen las ciencias ómicas, la conservación del medio ambiente y la cerveza.

Bioindicadores de la contaminación atmosférica

María Lara Jiménez

Resumen—La presencia de contaminantes en el aire es un factor de gran importancia que puede comprometer la salud de plantas, animales y humanos. Es en las grandes ciudades donde tienden a acumularse, debido principalmente a la alta densidad poblacional y al elevado tránsito de vehículos. Estos contaminantes no suelen ser apreciados a simple vista. Sin embargo, existen organismos que responden a la contaminación atmosférica con cambios en su apariencia, algunos de los cuales son proporcionales a la concentración de contaminante, o acumulándolos en su interior: son los denominados bioindicadores. Estos organismos, que pueden ser desde especies voladoras hasta especies sedentarias como los líquenes, proporcionan una información que complementa a los datos obtenidos por métodos fisicoquímicos en las estaciones de monitoreo. No todos los bioindicadores son aptos para detectar un contaminante determinado ni para su cuantificación. En este artículo, se expone una revisión de los bioindicadores y su uso para caracterizar la contaminación atmosférica.

Palabras Claves— Bioindicadores, Calidad del aire, Contaminación armosférica, Líquenes, Técnicas de monitoreo ambiental

1. Introducción

Los bioindicadores son organismos o comunidades de organismos que responden a la contaminación ambiental con modificaciones en su apariencia o acumulando contaminantes. A su vez, existen distintos tipos de bioindicadores, como los biomonitores, cuya respuesta fisiológica permite cuantificar la contaminación [1], [2]. Los biomonitores más sensibles pueden ser de tipo óptico y se usan como integradores del estrés causado por los contaminantes y como sistemas de alarma preventivos [3].

Una buena especie indicadora debe tener baja tolerancia y alta sensibilidad a alteraciones del medio ambiente [4]. Tras la exposición a contaminantes, presentarán primero un deterioro fisiológico, luego cambios morfológicos y, a veces, resultará en la desaparición o aparición de algunas especies en el ecosistema [5].

Las redes de medición de la calidad del aire emplean sensores basados en propiedades fisicoquímicas para medir principalmente las concentraciones de SO_2, NO_x, O_3, CO, polvo y arena. Sin embargo, no pueden apreciar los efectos acumulativos o la sinergia de contaminantes [4]. Este tipo de metodología es costosa en términos de inversión y operación de hardware (incluido el soporte logístico para mantenimiento y reparaciones), por lo que el número de estaciones normalmente está limitado a solo unas pocas por ciudad. Los métodos, en la mayoría de los casos, miden solo unos pocos o solo un contaminante [6].

Considerando estos problemas, el uso de organismos indicadores tiene la ventaja de aportar una serie de datos adicionales a los sistemas de monitoreo tradicionales [4], [7]:

- Los niveles medios de contaminación en micropoluyentes gracias a los fenómenos de bioacumulación.
- La incidencia real de contaminantes por estudios toxicológicos y ecotoxicológicos.
- Un enfoque más realista del impacto en la salud ambiental y humana, ya que tendrá en cuenta los conceptos de biodisponibilidad, dosis y exposición.

Los indicadores biológicos han sido ampliamente usados para monitorizar la calidad del aire, permitiendo identificar las áreas de una ciudad con una peor calidad para, posteriormente, proponer un plan para su mitigación [7], [8].

El objetivo de este artículo es elaborar una revisión de los organismos utilizados para el monitoreo de la calidad del aire, en concreto las aves, abejas, árboles y plantas pequeñas, musgos y líquenes, indicando los criterios que conducen a la elección de una u otra para detectar la contaminación atmosférica, así como los nuevos avances en el área.

2. Organismos indicadores

2.1. Aves

Las aves se han propuesto como bioindicadores de contaminación ambiental porque son sensibles a cambios atmosféricos del ecosistema en el que viven y, al recorrer grandes distancias, están muy distribuidos.

Se han realizado estudios de bioacumulación de metales pesados en el gorrión común por estar asociado a hábitats urbanos. Los diferentes tejidos de los gorriones poseen una capacidad variable para acumular metales, siendo el hígado y las plumas de los más acumuladores [9]. Los animales eliminan los contaminantes a través de secuestro en el pelo y las plumas, y que el proceso de muda es el principal medio de excreción de metales pesados [10], por lo que las plumas pueden ser usadas como un indicador de contaminación no invasivo que refleja la exposición a largo plazo de los contaminantes a nivel lo-

María Lara Jiménez. Centro de Estudios de Postgrado, Universidad Pablo de Olavide. mlarjim@alu.upo.es.

cal. El plomo es el metal que muestra mayor acumulación en los tejidos, probablemente debido a que el plomo originado por la combustión del tetraetilo de plomo, un compuesto de la gasolina con plomo, todavía permanece en las ciudades [11].

2.2. Abejas

Las abejas melíferas están expuestas a través de una ruta indirecta o directa a una gran variedad de productos tóxicos debido a su naturaleza recolectora [12]. Sobrevuelan unas 700 hectáreas y cada colonia puede tener 40000 abejas, por lo que el área de muestreo es grande. Además, permiten medir la acumulación de contaminantes en un intervalo de tiempo, y no de forma puntual. Detectan rápidamente el deterioro químico del medio ambiente por la alta mortalidad y la presencia de contaminantes en su cuerpo o en productos de colmena. Son capaces de acumular eficientemente plomo, cromo y cadmio, pero no se ha reportado la presencia de mercurio en todos sus tejidos [13].

2.3. Árboles y plantas pequeñas

Los árboles y arbustos ornamentales se pueden usar como bioindicadores pasivos porque los contaminantes del aire se depositan en sus hojas. Estas hojas se recolectan y, posteiormente, son lavadas con agua destilada y analizadas en laboratorio [1]. Su uso a menudo está relacionado con la necesidad de cubrir una amplia zona de investigación. Además, las especies nativas no necesitan ningún mantenimiento específico. A cambio, la interpretación de los resultados debe tener en cuenta un número importante de criterios relacionados con la heterogeneidad de las condiciones de vida, como la calidad del suelo y las condiciones climáticas [4].

Los efectos directos de la contaminación sobre las plantas abarcan cambios morfológicos, bioquímicos y estructurales, como la defoliación y posible caída de las estructuras reproductivas, la pérdida de pigmentos, el aumento de la concentración de metales pesados en los tejidos, la reducción del área foliar y cambios en los estomas [4].

El ozono causa varios síntomas generales en las especies de hoja ancha, siendo el más común el punteado o pigmentación. Estos síntomas pueden confundirse con los de otras afecciones, como senescencia normal, trastornos nutricionales o patógenos bióticos. En especies coníferas, puede provocar quemaduras en las puntas de las agujas (Figura 1). La longitud de las puntas necróticas se correlaciona con la concentración de contaminantes [14].

La lesión aguda por SO_2 en los árboles de hoja ancha generalmente se manifiesta como necrosis intervenal de marfil a marrón, y bifacial.

Los síntomas del fluoruro consisten en clorosis de diversa gravedad, necrosis o ambas. Los síntomas aparecen primero en los márgenes o puntas de las hojas, donde se acumula el fluoruro. Con una gravedad creciente, los síntomas se extienden hacia la mitad de la hoja.

Para discernir los síntomas de estos contaminantes, las manchas de color entre las venas foliares están asociadas a una exposición al ozono, las necrosis foliares de flúor se encuentran preferentemente en el borde de las hojas y, en el caso de la exposición a SO2, entre las venas [14].

Fig. 1. Agujas de pino blanco quemadas por el ozono. Su concentración atmosférica está relacionada con la longitud de la quemadura. Modificada de [14].

Khavaninzadeh et al. [6] desarrollaron un método de evaluación de síntomas de las hojas dándole un enfoque práctico y novedoso. Determinaron que las lesiones de las hojas y su impacto en las propiedades espectrales pueden usarse como un indicador de la calidad del hábitat urbano. Esta técnica permite un biomonitoreo rápido y basado en el sitio de los hábitats urbanos, a diferencia de la determinación de otros parámetros de la hoja como la densidad de la hoja, el área o el número de manchas foliares (necróticas y cloróticas) como indicadores de daño foliar.

El material particulado puede obstruir el poro estomático. Con menos estomas y más pequeños, la planta puede controlar mejor la absorción de contaminantes, pero también puede aumentar su obstrucción y reducirse la fotosíntesis. En zonas contaminada, los árboles tienden a presentar estomas más grandes y con mayor distancia entre ellos [4].

Las plantas pequeñas también son susceptibles a los contaminantes atmosféricos. El ozono daña hasta la necrosis a las plantas de tabaco si su concentración en la atmósfera es muy alta [15]. El crecimiento de *Raphanus sativus* (rábano) y *Vicia faba* (haba) se ve afectado en presencia de ozono y NO_x [16].

Existen estudios que encontraron una correlación entre las concentraciones de metales pesados en los anillos de los árboles y las concentraciones atmosféricas, permitiendo conocer cómo variaron las concentraciones en los últimos 20 años [17].

2.4. Musgos

Los musgos se emplean con frecuencia para medir los depósitos metálicos atmosféricos, además de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y policlorobifenilos (PCBs). Existe una buena correlación entre las concentraciones observadas en los tejidos vegetales y los contenidos de cadmio, cobre, hierro, plomo, zinc y vanadio en el

agua de lluvia [5]. Además, ciertos tipos de briofitas parecen ser bioindicadores óptimos para la producción rápida de un mapa de aproximación con fines de radioprotección [18].

Los musgos se pueden colocar en bolsas de nylon con red, para evitar la asfixia, y colocarse a pocos metros del suelo en sitios donde no aparecen naturalmente. Un inconveniente es que para poner de manifiesto la contaminación de briofitas por metales e hidrocarburos se requieren métodos de extracción delicados [5].

2.5. Líquenes

Los líquenes son el resultado de una relación simbiótica entre un hongo y un alga. Son de crecimiento muy lento y vida larga, y, durante esta vida, no pierden sus características morfológicas. Poseen una amplia distribución desde los polos al ecuador, y crecen en las superficies de sustratos muy variados. Muchas especies no tienen la habilidad de adaptarse ecológica o genéticamente a la condición del medio alterada, de manera que su ausencia es un indicio del problema. Hay especies, aunque muy pocas, que están adaptadas a las áreas urbanas [19].

Anatómicamente, los líquenes no tienen estomas ni cutículas, lo que significa que los gases y aerosoles pueden ser absorbidos por toda su superficie. Acumulan sustancias de su entorno mediante una variedad de mecanismos, que incluyen la captura de partículas, el intercambio iónico, la adsorción extracelular de electrolitos, la hidrólisis y la absorción intracelular [20]. Sin embargo, no poseen mecanismos de eliminación [7]. Se puede usar como bioindicador o como bioacumulador [2].

Por todas estas razones los líquenes son, hasta el momento, los bioindicadores de la calidad del aire más estudiados [3], aunque no fue hasta el siglo XIX que se propuso usarlos a modo de bioindicador [21]. Son sensibles al dióxido de azufre, amoníaco, fluoruros, metales, especies radiactivas, hidrocarburos clorados y lluvia ácida.

En la Figura 2 están marcados todos los países que han realizado estudios con líquenes como bioindicadores. De hecho, muchos países de Europa y Estados unidos ya emplean líquenes para evaluar la contaminación atmosférica. África y Oceanía son las regiones donde menos trabajos recientes existen en el campo [2].

Fig. 2. Distribución de las investigaciones sobre líquenes como bioindicadores en el mundo. Extraída de [2].

Los líquenes son capaces de captar SO_2 y retener una tercera parte. Los sulfatos y bisulfatos se pueden acumular, provocando daños sustanciales en su membrana e impidiendo la correcta realización de la fotosíntesis, respiración y fijación de nitrógeno. Finalmente, su morfología se deforma y mueren. Estos efectos son los mismos que los que causa la exposición a óxidos de nitrógeno. La suma de las frecuencias de aparición de las especies de líquenes en una determinada superficie se correlaciona muy bien con las concentraciones de SO_2 del aire [19].

Los líquenes no responden directamente a los niveles de nitrógeno que se encuentran en el medio ambiente. Su reacción depende de los niveles de pH en relación con los niveles de amoníaco en la atmósfera [20]. En ambientes con niveles altos de NH_3, la calidad del aire puede ser erróneamente considerada como buena si se usa una especie nitrofítica de liquen para su monitoreo. Estas especies no son sensibles al SO_2 y para crecer solo necesitan que el pH de la corteza del árbol a la que estén asociados sea básico. El NH_4^+ atmosférico, depositado principalmente como $(NH_4)_2SO_4$, afecta ligeramente el pH de la corteza. Durante la última década, debido a la reducción de SO_2 junto con el aumento de las emisiones de NH_3 por su uso en la agricultura, la concentración atmosférica de NH_4^+ ha disminuido a favor de la concentración de NH_3. Este NH_3, con una velocidad de deposición mayor que la del NH_4^+, sí es capaz de causar un aumento considerable en el pH de la corteza, favoreciendo así el crecimiento de líquenes nitrofíticos a pesar de que existan niveles tóxicos de SO_2 en la atmósfera [22].

También se ha demostrado que los líquenes son buenos acumuladores de metales pesados, y que las concentraciones se correlacionan bien con las concentraciones medidas en la deposición [20]. La toxicidad del metal en los líquenes se evidencia por los efectos adversos en la integridad de la membrana celular, el contenido y la integridad de la clorofila, la fotosíntesis y la respiración, el rendimiento cuántico potencial del fotosistema II, la producción de etileno de estrés, la microestructura, las respuestas de reflectancia espectral, la resistencia a la sequía y la síntesis de varias enzimas, metabolitos secundarios y moléculas de transferencia de energía. Se ha sugerido que determinados líquenes podrían usarse para establecer gradientes de deposición atmosférica de Hg a un nivel geográfico general [23].

El efecto del flúor en los líquenes se manifiesta con concentraciones de 50-70 ppm. Por encima de 80 ppm, se observa clorosis por la concentración de flúor. La capacidad de los líquenes para acumular flúor es una función de la humedad relativa, que determina las condiciones de humedad del talo [24].

El efecto de los oxidantes fotoquímicos como el ozono y el PAN incluye disminuciones en la fotosíntesis, disminución en la distribución de especies, y cambios morfológicos y ultraestructurales [24]. Otros contaminantes, como el queroseno y el benceno emitidos por el tráfico aéreo, tienen menor efecto en los líquenes [3].

Con el objetivo de evitar el uso de técnicas fitosociológicas y simplificar el uso de líquenes, se han desarrollado métodos que calculan el índice de pureza atmosférica

(IPA). El IPA está definido matemáticamente por la siguiente fórmula [25]:

$$IPA = \frac{1}{10}\sum_{1}^{n}(Q \cdot f)$$

donde n es el número de especies de liquen en cada estación, Q es el índice ecológico de cada especie, y f es el coeficiente de cobertura y frecuencia de especies, y toma valores de 1 a 5. En base a los valores de IPA, se puede determinar el grado de contaminación del ambiente (Tabla 1).

TABLA 1
CONTAMINACIÓN SEGÚN EL RANGO DE IPA

IPA	Contamación atmosférica
3,51 – 5,06	Muy alta
5,07 – 6,61	Alta
6,62 – 8,17	Media
8,18 – 9,73	Baja
9,74 – 11,28	Muy baja
11,29 – 12,85	No hay

Modificada de [16]

3. CONCLUSIONES

Exsiten determinados bioindicadores más aptos para la medición de la contaminación atmosférica que otros. Las aves y abejas podrían usarse para determinar la concentración de metales pesados en un área grande de muestreo, pero poco se ha estudiado sobre los efectos del SO_2 o NO_X sobre los mismos. Los árboles se consideran buenos bioindicadores porque presentan cambios en su apariencia que son específicos de contaminantes, aunque podrían confundirse con los síntomas de la senescencia y otros procesos de lesión comunes. Si estos cambios en su aspecto pueden ser útiles o no para cuantificar la contaminación todavía está por determinar, aunque algunos autores han propuesto ya métodos basados en los cambios de reflectancia de la hoja para medirla. En el uso de líquenes, se debe tener en cuenta que algunas especies están adaptadas a áreas urbanas y que las especies nitrofíticas no son buenas indicadoras porque para crecer sólo requieren que el pH de la corteza del árbol al que asocian sea básico. A pesar de ello, la gran mayoría de artículos apoyan el uso de líquenes como bioindicador de la calidad del aire.

El reemplazo de los métodos fisicoquímicos actuales de control de la calidad del aire por el uso de bioindicadores presenta algunas desventajas a tener en cuenta. Los métodos fisicoquímicos pueden automatizarse, mientras que todavía no se han propuesto técnicas automáticas de medición basadas en bioindicadores. Además, se debe determinar la velocidad con la que aparecen las alteraciones del aspecto de los organismos y si esta sería lo suficientemente alta como para detectar la contaminación a tiempo real.

REFERENCIAS

[1] R. Anze, M. Franken, M. Zaballa, M.R. Pinto, G. Zeballos, M.A, Cuadros, A. Canseco, A. De La Rocha, V.H. Estellano and S., Del Granado, Susana, "Bioindicadores en la detección de la contaminación atmosférica en Bolivia", *REDESMA*, vol. 1, pp. 53-74, 2007.

[2] V.H.M. Estrada and J.M. Nájera, "El uso de líquenes como biomonitores para evaluar el estado de la contaminación atmosférica a nivel mundial", Biocenosis, vol. 25, no. 1-2, pp. 51-67, 2011.

[3] M. E. Conti and G. Cecchetti, "Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment--a review", *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, vol. 114, no. 3, pp. 471–492, 2001. https://doi.org/10.1016/s0269-7491(00)00224-4.

[4] M. Ferriol, S. Muñoz, H. Merle, A. Garmendia and C. López, "Papel de los árboles ornamentales como bioindicadores de la contaminación atmosférica urbana", *Actas de Horticultura*, no. 68, pp. 292-298, 2014.

[5] J. Falla, P. Laval-Gilly, M. Henryon, D. Morlot and J. Ferard, "Biological Air Quality Monitoring: a Review", *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 64, no. 3, pp. 627–644, 2000. https://doi.org/10.1023/A:1006385924945

[6] A.R. Khavaninzadeh, F. Veroustraete, J. Buytaert and R. Samson, "Leaf injury symptoms of Tilia sp. as an indicator of urban habitat quality", *Ecological Indicators*, vol. 41, pp. 58–64, 2014. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.01.014

[7] G. Cohn-Berger and M. Quezada, "Líquenes como bioindicadores de contaminación aérea en el corredor metropolitano de la ciudad de Guatemala", *Revista Científica*, vol. 26, no. 1, pp. 20-39, 2016.

[8] M.I. Käffer, A.T. Lemos, M.A. Apel, J.V. Rocha, S.M. Martins and V.M. Vargas, "Use of bioindicators to evaluate air quality and genotoxic compounds in an urban environment in Southern Brazil", *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, vol. 163, pp. 24–31, 2012. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.12.006

[9] E.P. Ochoa, "Aves silvestres como bioindicadores de contaminación ambiental y metales pesados", *CES Salud Pública*, vol. 5, no. 1, pp. 59-69, 2014.

[10] M.N. Rashed and M.E. Soltan, "Animal hair as biological indicator for heavy metal pollution in urban and rural areas", *Environ Monit Asses*, vol. 110, pp. 41-53, 2005.

[11] Web de eldiario.es. https://www.eldiario.es/sociedad/gorriones-medidores-presencia-plomo-ciudades_0_773773264.html

[12] A. Giglio, A. Ammendola, S. Battistella, A. Naccarato, A. Pallavicini, E. Simeon, A. Tagarelli and P.G. Giulianini, "*Apis mellifera ligustica*, Spinola 1806 as bioindicator for detecting environmental contamination: a preliminary study of heavy metal pollution in Trieste, Italy", *Environmental science and pollution research international*, vol. 24, no. 1, pp. 659–665, 2017.

[13] M. Perugini, M. Manera, L. Grotta, M.C. Abete, R. Tarasco, and M. Amorena, "Heavy metal (Hg, Cr, Cd, and Pb) contamination in urban areas and wildlife reserves: honeybees as bioindicators", *Biological trace element research*, vol. 140, no. 2, pp. 170-176, 2011.

[14] J.M. Skelly, D.D. Davis, W. Merrill, C.A. Cameron, H.D. Brown, D.B. Drummond and L.S. Dochinger, *Diagnosing injury to eastern forest trees: A manual for identifying damage caused by air*

pollution, pathogens, insects and abiotic stresses. Pennsylvania State University, U.S.A., 1987.

[15] A. Bytnerowicz, W.J. Manning, D. Grosjean, W. Chmielewski, W. Dmuchowski, K. Grodzinska and B. Godzik, "Detecting ozone and demonstrating its phytotoxicity in forested areas of Poland – A pilot study", *Environ. Pollut.*, vol. 80, pp. 301–305, 1993.

[16] O.J. Oller, "Empleo de bioindicadores para determinar la calidad del aire en la ciudad de Tarija en puntos de muestreo de red MoniCA", *Acta Nova*, vol. 8, no. 3, pp. 307-321, 2018.

[17] A. Turkyilmaz, H. Sevik, K. Isinkaralar and M. Cetin, "Use of tree rings as a bioindicator to observe atmospheric heavy metal deposition", *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 26, no. 5, pp. 5122-5130, 2019.

[18] C. Giovani, P.L. Nimis, G. Bolognini, R. Padovani and A. Usco, "Bryophytes as indicators of radiocesium deposition in northeastern Italy", *Sci. Total Environ.*, vol. 157, pp. 35–43, 1994.

[19] R. LijteRoff, L. Lima and B. PRieRi, "Uso de líquenes como bioindicadores de contaminación atmosférica en la ciudad de San Luis, Argentina", *Revista internacional de contaminación ambiental*, vol. 25, no. 2, pp. 111-120, 2009.

[20] R. Sett and M. Kundu, "Epiphytic lichens: their usefulness as bio-indicators of air pollution", *Donnish Journal of Research in Environmental Studies*, vol. 3, no. 3, pp. 17-24, 2016.

[21] W. Nylander, "Les lichens du Jardin de Luxemburg", *Bull. Soc. Bot. Fr.*, vol. 13, pp. 364-372, 1866.

[22] C.M. Van Herk, "Bark pH and susceptibility to toxic air pollutants as independent causes of changes in epiphytic lichen composition in space and time", *The lichenologist*, vol. 33, no. 5, pp. 419-442, 2001.

[23] N. Panichev, N. Mokgalaka and S. Panicheva "Assessment of air pollution by mercury in South African provinces using lichens *Parmelia caperata* as bioindicators", *Environmental geochemistry and health*, vol. 41, no. 5, pp. 2239-2250, 2019.

[24] I. Mares-Rueda, "Líquenes como bioindicadores de la calidad del aire", Trabajo fin de grado, Facultad de farmacia, Universidad Complutense, 2017.

[25] F. Leblanc and J. DeSloover, "Relation between industrialization and the distribution and growth of epiphytic lichens and mosses in Montreal", *Canadian Journal of Botany*, vol. 48, no. 8, pp. 1485-1496, 1970.

María Lara Jiménez. Graduada en Bioquímica por la Universidad de Málaga tras cuatro años de angustiosos, aunque esclarecedores, estudios. Actualmente, se encuentra cursando el Máster en Biotecnología ambiental, industrial y alimentaria de la Universidad Pablo de Olavide, en el cual la asginatura Química Ambiental Avanzada la llevó a escribir su primer artículo.

Hidrocarburos aromáticos policíclicos y sus efectos

José Antonio Herrera Gavilán

Resumen— Los hidrocarburos aromáticos policíclicos son compuestos orgánicos constituidos por hidrógeno y carbono que contienen dos o más anillos aromáticos de cinco o seis átomos de carbono. Diversas investigaciones han confirmado la relación entre la exposición de algunos de estos mencionados compuestos y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares o cáncer.

Palabras Claves— Benzopireno, Antraceno, Cáncer, Hidrocarburo aromático policíclico.

1. Introducción

En la actualidad, se conoce una gran cantidad de compuestos químicos que son capaces de generar diversas enfermedades entre las que podemos encontrar al cáncer. Uno de estos compuestos son los denominados hidrocarburos aromáticos policíclicos. Algunos de estos compuestos (se ha demostrado que no todos ocasionan los mismos efectos) son capaces de formar aductos de ADN, los cuales son formas de ADN resultantes a la exposición de agentes carcinogénicos que inducen la aparición de mutaciones que pueden suponer el inicio de un proceso neoplásico (crecimiento anormal y descontrolado de células).

2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son como su nombre indica, hidrocarburos (compuestos orgánicos que solo contienen hidrógeno y carbono) que están constituidos por múltiples anillos aromáticos fusionados. Los HAPs son moléculas apolares no cargadas que se pueden encontrar en el carbón o en el alquitrán, entre otros. Algunos ejemplos son el benzopireno, el naftaleno o el hexabenzocoroneno. A continuación, se puede observar la estructura de este último compuesto (Fig 1) [1], [2].

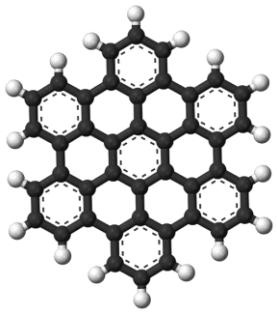


Fig. 1. Estructura del hexabenzocoroneno [3].

José Antonio Herrera Gavilán. Universidad Pablo de Olavide.

jahergav@alu.upo.es

Como se ha mencionado anteriormente, no todos los HAPs causan los mismos efectos. Por este motivo, el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) ha clasificado a los doce HAPs más relevantes dentro de distintos grupos. El benzo(a)pireno se encuentra dentro del grupo 1 (carcinógeno para el ser humano). Por otro lado, el dibenzo(a,h)antraceno y el dibenzo(a,l)pireno están dentro del grupo 2A, donde también podemos encontrar otras sustancias como el glifosato (un polémico herbicida) o la acrilamida, una sustancia que se forma en alimentos ricos en hidratos de carbono cuando son cocinados a altas temperaturas. Todos ellos presentan una alta probabilidad de ser compuestos carcinógenos para el ser humano. Por último, otros HAPs como el benzo(a)antraceno o el criseno se encuentran dentro del grupo 2B (posiblemente carcinógenos para el ser humano) [4].

3. Origen y uso de los HAPs

Los HAPs son generados a partir de la combustión incompleta de otros compuestos orgánicos como el carbón, el petróleo, la gasolina, el tabaco e incluso la carne cocinada a la parrilla. Cabe destacar que los hidrocarburos aromáticos policíclicos no aparecen de manera aislada, sino que se encuentran normalmente como una mezcla de ellos.

La aparición de hidrocarburos aromáticos policíclicos en los alimentos puede deberse a causas ambientales como consecuencia de incendios forestales, erupciones volcánicas, o bien debido a diversas técnicas que se utilizan para conservar de manera correcta los alimentos como el ahumado, además de diversos métodos de cocinado como puede ser el asado [1], [2]. La proporción de hidrocarburos aromáticos policíclicos depende tanto de la temperatura (la formación de HAPs se ve favorecida a temperaturas superiores a 300ºC), así como la cantidad de lípidos y proteínas presentes en el alimento (Fig. 2). Esto es debido a que los

HAPs pueden generarse como producto de la pirólisis (combustión incompleta de materia orgánica a altas temperaturas) de lípidos y proteínas [1], [5].

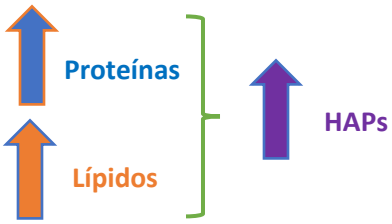


Fig 2. Condiciones que favorecen la formación de HAPs. Modificado de [1].

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos presentan una gran cantidad de usos, entre los que podemos encontrar la síntesis de fármacos, así como la producción de plásticos, pesticidas y tintas. También encontramos este tipo de compuestos en el asfalto de las carreteras, en el petróleo o en la creosota. Esta última es una sustancia destilada a partir del alquitrán utilizada para impermeabilizar la madera [5].

4. Algunos HAPs de interés

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos son un grupo de más de cien sustancias químicas diferentes, entre los que podemos encontrar al benzopireno, criseno, el antraceno o el naftaleno. A continuación, se describen al detalle alguno de ellos.

4.1. Benzopireno

El benzo(a)pireno es un hidrocarburo aromático policíclico que se encuentra en el alquitrán de hulla, en el humo del tabaco y en carnes que son cocinadas a la parrilla. Presenta la fórmula $C_{20}H_{12}$ y es la sustancia cancerígena más potente entre los HAPs, así como el más estudiado de ellos. El benzo(a)pireno es capaz de generar graves efectos en el sistema nervioso, sistema inmune, en la reproducción e incluso efectos cancerígenos al interaccionar su forma oxidada (epoxi-diol) con el ADN (véase Fig. 3) [6].

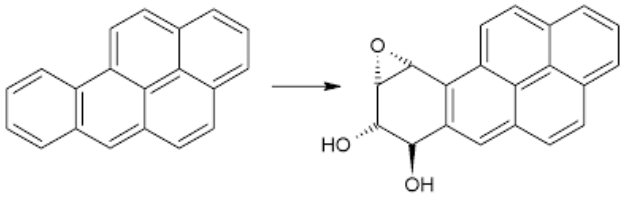


Fig. 3. Oxidación del benzo(a)pireno a epoxi-diol [7].

4.2. Antraceno

El antraceno es otro HAP de gran importancia. Mediante reacciones de oxidación, el antraceno es transformado en antraquinona, la cual sirve como materia prima en la elaboración de colorantes de la alizarina (de color carmín) y del indantreno (de color azul). También es utilizado en la elaboración de ciertos conservantes e insecticidas [8]. A continuación, se muestra su estructura.

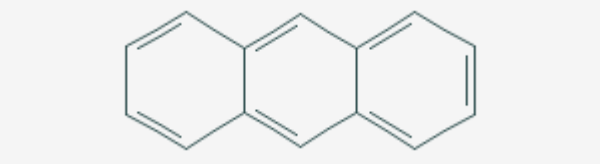


Fig. 4. Estructura del antraceno [9].

5. Riesgos

La exposición a los hidrocarburos aromáticos policíclicos puede generar diversos efectos perjudiciales en la salud de los seres humanos. La principal fuente de exposición a HAPs en personas fumadoras es el humo del tabaco, mientras que en no fumadoras son principalmente los alimentos cocinados a la parrilla. Cabe destacar que no se ha podido establecer una ingesta diaria tolerable con la que no se observen riesgos visibles para la salud [1].

Ernest Kennaway junto con Izrael Hieger demostraron por primera vez en 1930, la relación entre la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos y el desarrollo de cáncer. Sin embargo, los HAPs no solo producen cáncer, sino que también son capaces de originar otro tipo de enfermedades como las cardiovasculares [10].

5.1. Cáncer

Algunos hidrocarburos aromáticos policícilicos son causantes de la aparición de cáncer. Esto se debe a que estos generalmente son oxidados para hacerlos más solubles en agua y así poder ser excretados del organismo. Estos productos oxidados parecen ser los causantes del desarrollo del cáncer. Por ejemplo, el benzo(a)pireno se oxida a epoxi-diol (Fig. 3) y éste puede unirse al ADN en sitios específicos, formando complejos voluminosos llamados aductos de ADN que causan mutaciones. Dichas mutaciones, si no se reparan pueden desencadenar la aparición de cáncer [11]. Este hecho se conoce desde 1775, cuando el cirujano Percival Pott relacionó la exposición al hollín con la aparición de cáncer escrotal en deshollinadores [12].

5.2. Enfermedades cardiovasculares

La exposición de adultos a hidrocarburos aromáticos policíclicos se ha relacionado también con enfermedades cardiovasculares. Se ha observado que aquellos individuos expuestos a ciertos HAPs han mostrado un mayor desarrollo de placas de ateroma (aterogénesis) dentro de las arterias. La aterogénesis es el proceso por el cual se forman depósitos de lípidos en las paredes de las arterias [13], [14], [15].

6. Conclusiones

Gracias a diferentes investigaciones, podemos concluir que la exposición a determinados hidrocarburos aromáticos policíclicos puede desencadenar la aparición de determinadas enfermedades cardiovasculares o incluso de cáncer. Existen diversas fuentes de exposición como los alimentos ricos en grasas y proteínas que son cocinados a la parrilla, el tabaco o el alquitrán. Por ello, la principal recomendación es reducir la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos procedentes del humo del tabaco y también reduciendo la ingesta de alimentos muy cocinados, para así evitar los posibles efectos que estos puedan ocasionar.

Referencias

[1] Web de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN). http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/haps.htm

[2] Web de la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). https://www.atsdr.cdc.gov/es

[3] Web de Wikipedia Commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hexabenzocoronene-3D-balls.png

[4] Web del Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC), https://www.iarc.fr/

[5] C. Mastandrea, C. Cichizola, B. Ludueña, H. Sánchez, H. Álvarez y A. Gutiérrez. "Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos". Acta Bioquím Clin Latinoam. 2005;39(1):27-36.

[6] Web de ScienceDirect. https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/benzo-a-pyrene

[7] Web de Wikipedia Commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Benzo-a-pyrene_oxidation.png

[8] Web del Registro Estatal de Emisiones y Fuentes Contaminantes (PRTR) del Gobierno de España. http://www.prtr-es.es/Antraceno,15648,11,2007.html

[9] Web de PubChem. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8418

[10] R. E. Waller, "60 years of chemical carcinogens: Sir Ernest Kennaway in retirement.," *J. R. Soc. Med.*, vol. 87, no. 2, pp. 96–7, Feb. 1994.

[11] C.-E. Boström *et al.*, "Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air.," *Environ. Health Perspect.*, vol. 110 Suppl 3, no. Suppl 3, pp. 451–88, Jun. 2002, doi: 10.1289/ehp.110-1241197

[12] J. R. BROWN and J. L. THORNTON, "Percivall Pott (1714-1788) and chimney sweepers' cancer of the scrotum.," *Br. J. Ind. Med.*, vol. 14, no. 1, pp. 68–70, Jan. 1957, doi: 10.1136/oem.14.1.68.

[13] A. Alhamdow, C. Lindh, M. Albin, P. Gustavsson, H. Tinnerberg, and K. Broberg, "Early markers of cardiovascular disease are associated with occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons," *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, p. 9426, Dec. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-09956-x.

[14] C. Hu *et al.*, "Association of polycyclic aromatic hydrocarbons exposure with atherosclerotic cardiovascular disease risk: A role of mean platelet volume or club cell secretory protein," *Environ. Pollut.*, vol. 233, pp. 45–53, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.envpol.2017.10.042.

[15] P. Poursafa *et al.*, "A Systematic Review on the Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Cardiometabolic Impairment.," *Int. J. Prev. Med.*, vol. 8, 2017, doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_144_17.

José Antonio Herrera Gavilán es estudiante del tercer curso del Grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla).

EosFiLiC: Cálculo de las líneas de campo electrostático en el interior de estructuras periódicas

Rafael María Madero-Castro

Resumen—El estudio de los mecanismos de adsorción de moléculas gaseosas en materiales porosos cristalinos es un elemento fundamental a la hora de conocer como estos materiales adsorben/desorben. La interacción es llevada a cabo, directa o indirectamente, a través de fuerzas electrostáticas. Por este motivo, el conocimiento de las interacciones entre los átomos de la molécula con la estructura presenta una gran ventaja a la hora de explicar los mecanismos de adsorción. En este artículo se explica el funcionamiento de un programa de creación propia que calcula las líneas de campo electrostático dentro de cristales.

Palabras Clave—EosFiLiC, Campo Electrostático, Estructuras Periódicas, Líneas de Campo.

1. Introducción

La interacción electromagnética es una de las cuatro fuerzas fundamentales que existen en la naturaleza junto a la gravitatoria, la nuclear débil y la nuclear fuerte [1]. Los orígenes del estudio del electromagnetismo se remontan hasta la antigua Grecia, alrededor del año 600 a.C. cuando el filósofo griego Tales de Mileto observó que al frotar una varilla de ámbar presentaba lo que hoy llamamos fenómenos eléctrostáticos [2]. No obstante, no fue hasta el S. XVII cuando el filósofo y médico inglés William Gilbert acuñó la palabra electricidad. Los fenómenos eléctricos han sido muy explorados desde entonces. La interacción eléctrica es usada cada día en hogares e industrias de todo el mundo con millones de usos. Es una interacción comprendida tanto en el mundo clásico como en el cuántico.

La interacción electrostática está basada las fuerzas que ejercen las cargas eléctricas entre ellas. Estas cargas eléctricas pueden ser de dos tipos, positivas y negativas. Dentro de un marco clásico, los elementos más pequeños de cargas positivas (negativas) son los protones (electrones). Los protones son partículas subatómicas que, junto a los neutrones, forman el núcleo de los elementos. Los electrones son partículas más ligeras (del orden de 3000 veces) que giran alrededor de los núcleos. La carga neta de cualquier objeto está dada por el desbalance entre el número de protones y de electrones que posee. Como los protones forman parte del núcleo atómico y describen al elemento químico, que un objeto pueda cambiar de carga sin cambiar de composición da cuenta de que son los electrones los que generan carga positiva o negativa diminuyendo o aumentando su número.

Rafael María Madero-Castro, Departamento de Sistemas Físicos, Químicos y Naturales, Universidad Pablo de Olavide, E-mail: rmmadcas@upo.es

La fuerza que ejerce una carga eléctrica sobre otra es una fuerza proporcional al valor de ambas cargas e inversamente proporcional al cuadrado de la distancia que las separa (Fuerza de Coulomb) [3]. Es una fuerza radial que hace que ambas cargas se repelan si son del mismo signo y que se atraigan si son de signo opuesto. Es una interacción que se lleva a cabo a través de un campo, es decir, la carga q_1 genera un campo $\vec{E}_1$ y éste ejerce la fuerza sobre la carga q_2 [4]. El campo electrostático elimina el problema de la acción a distancia y permite asociar un potencial al campo. La diferencia de potencial (d.d.p), también llamada tensión, es un parámetro fundamental para todos los dispositivos que funcionan con una corriente eléctrica.

Al igual que la fuerza, el campo electrostático es un vector el cual posee una dirección radial y apunta hacia el exterior (interior) en el caso de una carga positiva (negativa). El campo electrostático en un punto cualquiera del espacio generado por distintas cargas no es más que la suma de los campos generados por esas cargas de forma individual (principio de superposición)[5],[6].

El concepto de línea de campo es el de una línea que muestra como va variando el campo a lo largo del espacio y tanto en dirección y sentido como en intensidad. Las líneas de campo definen una trayectoria en el espacio donde el campo eléctrico es siempre tangente a las mismas. La densidad de líneas de campo muestra la intensidad del mismo. Este concepto fue introducido originalmente por Michael Faraday en 1852 en su obra "*On the Physical Character of the Lines of Magnetic Force*" [7].

En este artículo hemos desarrollado la metodología seguida por el programa Electrostatic Field Lines Calculator (**EosFiLiC**) [8] para el cálculo de líneas de campo electrostático generado por las cargas parciales de

los átomos de materiales cristalinos periódicos. Dichos materiales están representados por su celda unidad a través de Crystallograpic Information File (.cif). Este archivo posee los parámetros de red (longitudes de sus vectores y orientación entre ellos), la posición de las partículas en coordenadas cristalográficas y la carga parcial de los átomos. EosFiLiC tiene como archivo de salida uno con formato Protein Data Bank (.pdb). Este formato puede ser visualizado con softwares como GDIS [9] o Visual Molecular Dynamics (VMD) [10].

2. METODOLOGÍA

La filosofía básica del programa EosFiLiC se basa únicamente en el principio de superposición. Para ello, aplica el campo asociado a la ley de Coulomb (ec. 1). Por simplicidad, consideraremos una celda unidad cúbica de longitud L. El campo eléctrico $\vec{E}$ calculado en una posición del espacio $\vec{r}$ dentro de la celda unidad es:

$$\vec{E}(\vec{r}) = \sum_{\vec{n}}^{\infty} \sum_{i=1}^{n_{atoms}} \frac{1}{4\pi\varepsilon_0} \frac{q_i}{|\vec{r} - (\vec{r}_i^{\,\prime} + \vec{n}L)|^3} \left(\vec{r} - \vec{r}_i^{\,\prime}\right) \quad (1)$$

Donde q_i es la carga del átomo i, $\vec{r}_i^{\,\prime}$ su posición, ε_0 es la permitividad eléctrica del vacío y $\vec{n}$ un vector que representa la reproducibilidad de la celda en cada uno de sus ejes.

El programa está diseñado para calcular líneas de campo dentro de materiales cristalinos que, por definición, son infinitos. Por lo que el sumatorio en i se extiende hasta el número de átomos que posee la celda unidad. Sin embargo, la celda se reproduce hasta el infinito en todos sus ejes. En la realidad que un material sea infinito significa que sus extremos se encuentran lo suficientemente alejados del punto donde se realizan los cálculos como para poder despreciar los efectos de borde, por lo que este programa sólo es válido para calcular las líneas de campo dentro de cristales.

Debido a que el campo eléctrico decrece como $|\vec{E}| \propto r^{-2}$ es posible encontrar una convergencia aun sumando infinitas cargas, sin embargo, esta convergencia es muy lenta. Para simplificar los cálculos evitando la pérdida de información, EosFiLiC considera sólo las cargas que se encuentren a una distancia inferior a una determinada longitud máxima o *Cutoff* R_i. Se considera este *Cutoff* como un valor dinámico, de forma que va incrementándose hasta conseguir que la diferencia entre los campos calculados con la influencia de las cargas comprendidas entre R_1 y $R_2 = R_1 + dR$ sea menor que una cierta tolerancia δ (ec. 2)

$$\frac{|\vec{E}_1 - \vec{E}_2|}{|\vec{E}_1 + \vec{E}_2|} < \delta \quad (2)$$

Siendo E_1 y E_2 los campos calculados teniendo en cuenta las cargas comprendidas en las esferas R_1 y R_2 respectivamente. La figura 1 muestra un esquema de como se calcula el campo eléctrico en un punto P dentro de la celda unidad teniendo en cuenta la reproducibilidad de la celda.

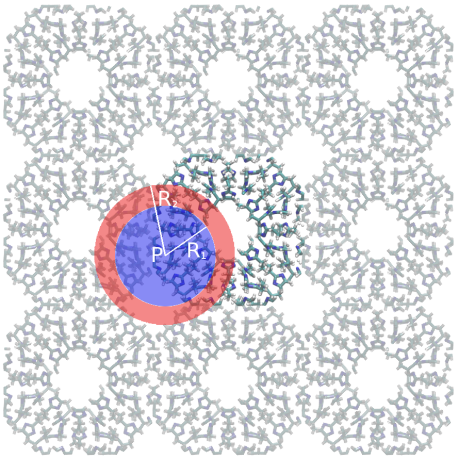


Figura 1. Representación esquemática de como el programa EosFiLiC calcula el campo eléctrico en el punto P teniendo en cuenta las cargas de los átomos dentro de las esferas de radio R_1 y R_2.

La celda unidad está centrada en la figura 1 mientras que la estructura reproducida en todos sus ejes se encuentra con un menor contraste de color. El punto P representa la posición donde se calcula el campo eléctrico, mientras que las esferas de color azul y rojo representan los *Cutoff* utilizados para el cálculo del campo (R_1 y R_2 respectivamente). Una vez que el valor del campo eléctrico es conocido dentro de la tolerancia δ, EosFiLiC calcula el vector unitario del campo para desplazar el nuevo punto P' un diferencial de longitud (dl) en esa dirección. El vector unitario $\hat{u}_r(\vec{r})$ se calcula dividiendo el vector campo eléctrico $\vec{E}(\vec{r})$ por su módulo (ec. 3)

$$\hat{u}_r\left(\vec{r}\right) = \frac{\vec{E}}{|\vec{E}|} \quad (3)$$

Realizando estas acciones de forma recursiva, se obtiene una trayectoria en la que el campo eléctrico es siempre tangente a la misma, es decir, una línea de campo. (ec. 4)

$$\vec{P}_{n+1} = \vec{P}_n + dl \cdot \hat{u}_r\left(\vec{P}_n\right) \quad (4)$$

El valor del diferencial de longitud es un factor clave para el cálculo de las líneas de campo. Un dl muy pequeño aumenta el tiempo de cálculo de manera considerable e incrementa el error de redondeo. Mientras que un dl demasiado grande hace que los resultados obtenidos no se ajusten a los valores reales. El número de puntos calculados es otro factor a tener en cuenta debido a que un número bajo de puntos

reproducirá una línea de campo demasiado corta para obtener información de ella mientras que un número de puntos muy grande elevará el tiempo de cálculo.

3. Resultados y discusión

En esta sección se muestran una serie ejemplos de líneas de campo electrostático en diversas estructuras y de como puede ser usada esta información cualitativa para dar explicación a fenómenos cuantitativos. Las estructuras que consideraremos serán una zeolita, un Metal Organic-Framework (MOF) y Zeolitic Imidazole Framework (ZIF).

La figura 2 muestra las líneas de campo dentro de los canales de la zeolita con topología TON. TON es una zeolita que posee canales rectos aislados unos de otros formados por anillos de 10 pares átomos de silicio/oxígeno. Los átomos de silicio de una carga parcial positiva de $q_{Si} = 2{,}05e$ mientras que los átomos de oxígeno poseen una carga negativa $q_O = -1{,}05e$, siendo e la carga del electrón. El campo eléctrico generado en el interior de los canales de la zeolita TON nace en los átomos de silicio (amarillos) y mueren en los de oxigeno (rojos).

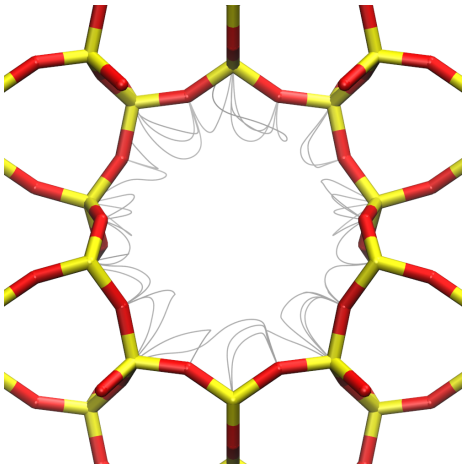


Figura 2. Líneas de campo dentro del poro de la zeolita TON. Los átomos amarillos representan al silicio mientras que los rojos representan al oxigeno.

Aunque las líneas de campo dan una visión cualitativa de como se comporta el campo electrostático, también podemos obtener información de ellas. Por ejemplos, las líneas de campo pueden ser usadas para estudiar la adsorción de moléculas polares en estructuras con metales expuestos (Open Metal Site). La figura 3 muestra las líneas de campo cercanas a los metales del Zn-MOF-74 con una molécula de (a) catecol y (b) resorcinol adsorbida. Catecol y resorcinol son dos de los tres isómeros del bencenodiol. La adsorción de una molécula de estos dioles con la estructura se lleva a cabo a través de la interacción con el Zn (esfera gris) con los grupos hidroxilo de las moléculas (esferas roja y blanca). Catecol, por la disposición de sus átomos, solo es capaz de interactuar con un metal, mientras que resorcinol puede interactuar con dos. Los dipolos formados por los grupos $-$COH se alinean con las líneas de campo generando un mínimo en la energía potencial del sistema. Este hecho se ve reflejado en el calor de adsorción, siendo el del resorcinol mucho más alto que el del catecol. Las líneas de campo, sin darnos información cuantitativa, nos proporcionan una herramienta para relacionar una magnitud macroscópica como es el calor de adsorción con una microscópica como es la interacción de átomos individuales.

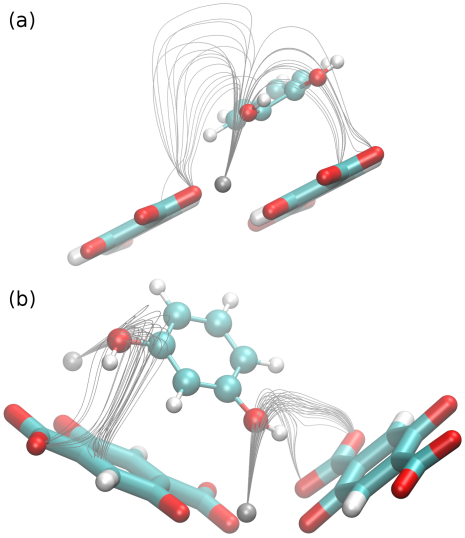


Figura 3. Líneas de campo cercanas al metal (Zn) del MOF-74 cuando adsorbe moléculas polares como son (a) el catecol y (b) el resorcinol. Las esferas grises, verdes azuladas, rojas y blancas representan a los átomos de Zinc, Carbono, Oxigeno e Hidrógeno respectivamente.

Por último, en este artículo hemos estudiado el campo electrostático cerca de una estructura hidrofóbica. La figura 4 muestra las líneas de campo cercanas al ligando del MAF-6. MAF-6 es un ZIF formado por ligandos orgánicos de 2-etilmidazolio unidos a centros metálicos de zinc con una topología RHO. Las líneas de campo nacen de las cargas positivas (átomos de Zn e H) y mueren en las negativas (C y N). Al contrario que en el caso anterior, las cargas de los átomos que constituyen el sistema son mucho menos intensas por lo que las líneas de campo se alejan menos de la estructura. Este hecho hace que la influencia del campo electrostático sea menor que en otras estructuras.

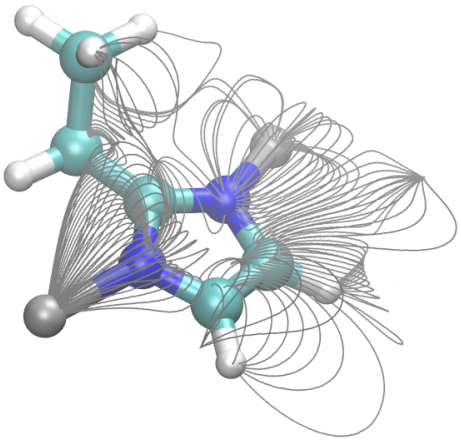


Figura 4. Líneas de campo cercanas al ligando orgánico del MAF-6. Las esferas grises, azules, verdes azuladas y blancas representan a los átomos de Zinc, Nitrogeno, Carbono e Hidrógeno respectivamente.

4. Conclusiones

El programa EosFiLiC nos proporciona una herramienta muy potente para el cálculo de líneas de campo electrostático dentro de materiales cristalinos. EosFiLiC genera archivos de salida que permiten la visualización de fuentes y sumideros de campos electrostáticos o de como las moléculas que poseen momento dipolar interactúan con los materiales cristalinos. El conocimiento, aun siendo más cualitativo que cuantitativo de estos fenómenos, nos permite interpretar resultados obtenidos como la posición de lugares de adsorción (binding sites) o el calor de adsorción, relacionando variables del espacio fásico con magnitudes macroscópicas medidas en el laboratorio.

Agradecimientos

La investigación que condujo a estos resultados recibió financiación del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO CTQ2017-92173-EXP). We thank C3UPO for the HPC support.

Referencias

[1] J. Schwinger, "A theory of the fundamental interactions" Ann. Phys. vol. 2, no. 5, pp. 407-434, 1957.
[2] P. Iversen and D. J. Lacks, "A life of its own: The tenuous connection between Thales of Miletus and the study of electrostatic charging", J. Electrostat., vol 70, no. 3, pp. 309-311, 2012
[3] D. Halliday, R. Resnick, and J. Walker, *Fundamentals of Physics Extended(10th ed.)*. 2013
[4] J. Roche, "Introducing electric fields", Phys. Educ, vol. 51, no. 5, pp. 1-6, 2016
[5] L. Viennot and S. Rainson, "Design and evaluation of a research-based teaching sequence: The superposition of electric field," Int. J. Sci. Educ., vol 21, no. 1, pp. 1-16, 1999.
[6] E. Campos, G. Zavala, K. Zuza, and J. Guisasola, "Electric field lines: The implications of students' interpretation on their understanding of the concept of electric field and of the superposition principle," Am. J. Phys., vol. 87, no. 8, pp. 660-667. 2019.
[7] M. Faraday, "On the Physical Character of the Lines of Magnetic Force: With a Plate." Phil. Mag. S. 4., vol. 3, no. 20, pp. 401-428. 1852
[8] R.M. Madero-Castro, "Git-Hub-rmmadcas/EosFiLiC", 2020 [Online] Available: https://github.com/rmmadcas/EosFiLiC. [Accessed:24-Jul-2020]
[9] S. Fleming and A. Rohl, "GDIS: A visualization program for molecular and periodic systems", Z. Krist., vol. 220, pp. 580-584. 2005
[10] W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, "VMD: Visual Molecular Dynamic", J. Mol. Graph., vol. 14, pp. 33-38, 1996

Rafael María Madero Castro recibió el título de Licenciado en Física por la Universidad de Córdoba en 2014, y del Máster en Física: Radiaciones, Nanotecnología, Partículas y Astrofísica en 2015. Desde octubre de 2017 se encuentra realizando su tesis doctoral en el grupo RASPA de la Universidad Pablo Olavide.

Metilfenidato en el tratamiento del trastorno por déficit de atención e hiperactividad

Paula Cilleros Holgado, Rubén Jurado Escobar, Rocío Piñero Pérez

Resumen— El trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH o ADHD por sus siglas en inglés) es un trastorno de origen neuropsicológico caracterizado fundamentalmente por la falta de atención e hiperactividad-impulsividad de los individuos afectados. Existen diversas estrategias farmacológicas para su tratamiento, divididas en psicoestimulantes y no psicoestimulantes, entre las que destacan el metilfenidato por ser el tratamiento de elección para este trastorno. Sin embargo, este fármaco presenta múltiples efectos secundarios que afectan al desarrollo normal del paciente y su mecanismo de acción es complejo, por lo que se requieren mejoras y un mayor estudio sobre el mismo.

Palabras Claves— Dopamina, Efectos secundarios, Metilfenidato, Noradrenalina, Trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH).

1. Introducción

El trastorno por déficit de atención e hiperactividad es un trastorno de origen neuropsicológico que afecta a procesos biológicos básicos para la adaptación social y afectiva, así como para el aprendizaje, entre los cuales se incluyen la falta de atención, de control inhibitorio de la conducta y las dificultades en la autorregulación de las funciones ejecutivas [1].

Su etiología es compleja y multifactorial. Sin embargo, se ha identificado la importancia de los factores de riesgo medioambientales y genéticos, así como de los procesos epigenéticos [2].

En cuanto a los mecanismos moleculares y bioquímicos implicados en la etiología del TDAH, los circuitos sinápticos que se ven afectados en este trastorno se encuentran controlados principalmente por dopamina, aunque en ellos también está implicada la noradrenalina o norepinefrina. Conociendo el mecanismo de acción de los receptores de dopamina y noradrenalina, se plantea la hipótesis de que cuando un individuo está aburrido o fatigado se libera poca cantidad de estos neurotransmisores, produciéndose una activación insuficiente de los receptores postsinápticos de dopamina D1 y noradrenalina α2A y provocando que dicho individuo se distraiga fácilmente y actúe de forma impulsiva [3].

En condiciones de estrés, se libera una gran cantidad de dopamina y noradrenalina, llevando a una sobreactivación de los receptores post-sinápticos anteriores y provocando atención y respuestas mal orientadas [3].

En conjunto, en el TDAH se reduce la liberación tónica de dopamina, lo que provoca un aumento en la liberación fásica de la misma, produciendo desajustes en la atención e hiperactividad del sistema dopaminérgico, dando lugar a desequilibrios en la neurotransmisión de este sistema que es responsable de la sintomatología propia del trastorno [4].

Además, se han asociado al TDAH polimorfismos en el receptor de dopamina D4 (DRD4), D5 (DRD5), el transportador de dopamina DAT1, así como en SNAP25, etc., que reducen la funcionalidad del sistema dopaminérgico [5].

Con respecto a la prevalencia, ésta es de un 1-20% en España y de un 5.29% en el mundo, siendo mayor en hombres que en mujeres, con una proporción de 3:1. Esta proporción mayoritaria en hombres se debe a que muchos de los polimorfismos que se relacionan con el TDAH se encuentran en genes codificados en el cromosoma sexual X [6].

Por último, existen múltiples estrategias farmacológicas utilizadas para el tratamiento del TDAH, principalmente psicoestimulantes como las anfetaminas y sus derivados, donde destaca el metilfenidato por ser el más ampliamente utilizado en la práctica clínica.

2. Tratamiento

Los tratamientos utilizados para el TDAH se clasifican en estimulantes y no estimulantes, algo que puede resultar confuso en un principio dado que todos ellos aumentan la neurotransmisión excitatoria llevada a cabo por dopamina, noradrenalina o ambas al mismo tiempo. El criterio utilizado para esta clasificación se basa en que los psicoestimulantes actúan sobre el sistema dopaminérgico, mientras que los tratamientos no estimulantes lo hacen sobre el noradrenérgico, aunque en algunos casos esto no es estrictamente así [7].

En cualquier caso, este artículo se centra en los psicoestimulantes por su importancia en el tratamiento del trastorno por déficit de atención e hiperactividad.

2.1. Psicoestimulantes

Los psicoestimulantes están dirigidos a la mejora de la sintomatología del TDAH ya que, dado que los sistemas dopaminérgico y noradrenérgico se encuentran desequilibrados, el bloqueo de los transportadores de recaptación de dopamina (DAT-1) y noradrenalina (NAT) consigue un

Paula Cilleros Holgado; Rubén Jurado Escobar; Rocío Piñero Pérez, Máster en Biotecnología Sanitaria, Universidad Pablo de Olavide.

mantenimiento de los niveles adecuados de estos neurotransmisores [3].

Dentro de los psicoestimulantes, destaca el metilfenidato, un derivado anfetamínico que constituye el tratamiento de elección para el TDAH.

2.1.1. Metilfenidato

Se trata del psicoestimulante más ampliamente utilizado para el tratamiento del trastorno en estudio, siendo un derivado de la piperidina. [8].

Es una amina secundaria que presenta 4 isómeros ópticos: D-treo, L-treo, D-eritreo y L-eritreo. Presenta estereoselectividad en el lugar de unión del receptor que se relaciona con la respuesta al fármaco. Normalmente, el compuesto farmacólogico administrado es una mezcla racémica de las formas D-treo y L-treo, ya que es esta mezcla la que parece ser la forma activa en el SNC [9].

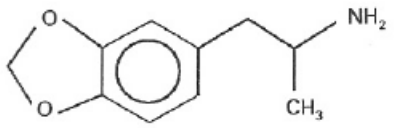


Fig. 1. Estructura química del metilfenidato 196 [9].

No obstante, existen distintas formulaciones con diferentes vías de administración, motivo por el cual los efectos beneficiosos y adversos son distintos en cada uno de los pacientes. Dentro de estas formulaciones, las más usadas son las de liberación prolongada cuyo efecto dura de 8-12 horas y su dosis es de 18-72 mg. También existen formulaciones de liberación inmediata que se toman dos o tres veces al día con una dosis de 5-20 mg y otras de acción intermedia, tomada una vez al día con dosis de 20-40 mg por la mañana y 20 mg a mediodía [8].

En cuanto a su mecanismo de acción, su acción farmacológica se basa en el aumento de la dopamina en la hendidura sináptica debido a la unión selectiva y bloqueo del transportador de recaptación de este aminoácido. Además, también se une al transportador de noradrenalina (NAT, también conocido con las siglas NET como aparece en la figura 2), inhibiendo la recaptación de noradrenalina por lo que provoca un incremento de los niveles de ambos neurotransmisores en el sistema nervioso central (SNC) [10].

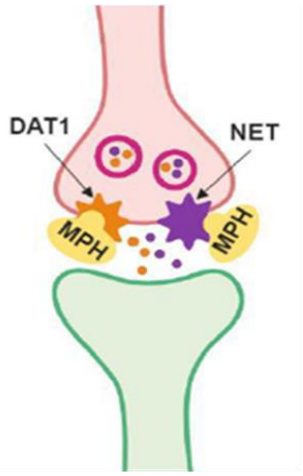


Fig. 2. Mecanismo de acción del metilfenidato. El fármaco se une selectivamente y bloquea los transportadores de recaptación de dopamina (DAT1) y noradrenalina (NAT), dando lugar a un aumento de los niveles de dichos neurotransmisores en la hendidura sináptica [10].

Rozas et al. en 2015 estudiaron el efecto del metilfenidato en el hipocampo y observaron que mejoraba la potenciación a largo plazo en las sinapsis piramidales CA3-CA1 de una manera dependiente de la dosis. En este proceso, el metilfenidato activa los receptores D1/D5 postinápticos, provocando la activación de la cascada de señalización adenilato ciclasa-AMPc-PKA. La PKA fosforila al residuo Ser845 de la subunidad GluA1 del receptor del ácido α-amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y aumenta el reclutamiento de esos receptores en la membrana postináptica los cuales, en última instancia, serán los responsables de la potenciación a largo plazo [11].

El receptor NMDA, principal implicado en la potenciación a largo plazo, también está implicado en este proceso y es que el metilfenidato produce una disminución pequeña, pero significativa, de la cantidad total de proteína NR1, una subunidad importante en este receptor, así como de la subunidad NR2B. La subunidad NR2A participa más en la potenciación a largo plazo y la NR2B en la depresión a largo plazo [12].

Por tanto, el aumento en la corriente de los receptores AMPA promovería la salida del ión Mg^{2+} que en condiciones basales bloquea al receptor NMDA y, además, la disminución de las subunidades NR2B daría lugar a la mejora de la potenciación a largo plazo, puesto que la corriente de los receptores NMDA iría únicamente por receptores formados por subunidades NR2A [11,12].

Asimismo, el metilfenidato influye en la diferenciación y proliferación a través de la cascada de señalización Wnt y se determinó que este efecto no estaba relacionado con los niveles de monoaminas ni la modulación del receptor de dopamina [13].

Sin embargo, a pesar de las múltiples mejoras que produce el metilfenidato en la sintomatología del TDAH y en la calidad de vida de los pacientes, cuenta con una gran cantidad de efectos secundarios que son de grave-

dad y que hay que tener en cuenta a la hora de prescribir un tratamiento.

Entre estos efectos secundarios se encuentran:

a. Reducción del crecimiento debido a la pérdida de apetito [14].
b. Aumento leve de la frecuencia cardíaca y la presión arterial debido a los efectos simpaticomiméticos, por lo que se recomienda monitorizar la función cardiovascular en pacientes con patologías cardiovasculares. Se observa un aumento del riesgo de arritmias e infartos de miocardio [15].
c. Aumento de convulsiones. Debe utilizarse con precaución en pacientes epilépticos o con antecedentes de convulsiones [16].
d. Aumento de los eventos psicóticos debido al incremento de la disponibilidad sináptica de dopamina [10].
e. Alteraciones del humor y suicidio. Se postula la hipótesis de que el tratamiento con metilfenidato aumenta la tendencia suicida de los individuos con TDAH, pero un estudio longitudinal señaló que no existe una relación positiva entre ambos sucesos [17].
f. Aumento del consumo de drogas de abuso probablemente porque el fármaco incrementa la sensibilidad a los efectos de recompensa [18].
g. Incremento del 60% de los trastornos del sueño después del tratamiento con psicoestimulantes. Esto puede causar graves trastornos en el estilo de vida del paciente tratado [19].

Además, aparte de estos efectos secundarios, también se producen otros como dolor abdominal, anorexia, dolor de cabeza, estreñimiento, aumento de la hiperactividad, naúseas, sequedad de boca, etc. [20].

3. Discusión

El trastorno por déficit de atención e hiperactividad es un trastorno bastante limitante y con múltiples problemas para los pacientes ya que, en el caso de los niños, éstos presentan menor rendimiento académico y problemas con sus compañeros, mientras que en los adultos se producen dificultades en el funcionamiento psicosocial y neuropsicológico y aparencen niveles más bajos de logros educativos y empleos [6].

Además, actualmente se está produciendo un aumento de prevalencia de este trastorno debido a un diagnóstico ineficaz, existiendo un sobrediagnóstico y, con ello, un incremento del número de pacientes tratados con psicoestimulantes y, por tanto, con metilfenidato, con los múltiples efectos secundarios que este tratamiento conlleva [19].

Para evitar el sobrediagnóstico es necesaria una mayor investigación que permita un diagnóstico más preciso con marcadores biológicos relevantes tales commo la observación del flujo sanguíneo en las áreas del cerebro afectadas, la medición del sistema dopaminérgico junto con su señalización o un seguimiento más preciso del paciente durante un largo período para evaluar si realmente presenta los síntomas característicos del trastorno o simplemente son características inherentes a su personalidad o etapa del desarrollo.

4. Conclusiones

El tratamiento con psicoestimulantes y, en concreto, con metilfenidato, produce una mejora muy significativa de la sintomatología de los pacientes que padecen trastorno por déficit de atención e hiperactividad, con aumentos en el rendimiento académico y disminución de la hiperactividad-impulsividad propia de los pacientes. Sin embargo, el tratamiento con metilfenidato cuenta con múltiples efectos secundarios que pueden afectar al desarrollo normal de los infantes, afecta a su crecimiento y a su desarrollo cerebral, lo que resulta de especial importancia teniendo en cuenta que el tratamiento se inicia a edades muy tempranas, alrededor de los 5-6 años. Por otro lado, la disponibilidad de un diagnóstico más preciso evitaría la toma innecesaria de fármacos psicoestimulantes y reduciría la afectación de niños sin sintomatología clara del trastorno en estudio.

Por lo tanto, como se ha descrito a lo largo del artículo, el trastorno por déficit de atención e hiperactividad es muy complejo y, dado que su etiología no está dilucidada aún y los tratamientos disponibles poseen importantes efectos secundarios, es necesaria una mayor investigación para su prevención, tratamiento y diagnóstico más preciso.

Referencias

[1] R. L. Cerván and J. F. Romero-Pérez, "Electronic Journal of Research in Educational Psychology.", *Electron J Res Educ Psychol*, vol. 8, no. 22, pp. 1303-1338, 2010, Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=2931/293122000017.

[2] R. A. Barkley, K. M. Smith, M. Fischer, "ADHD risk genes involved in dopamine signaling and metabolism are associated with reduced estimated life expectancy at young adult follow-up in hyperactive and control children", *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, vol. 180, no. 3, pp. 175-185, Apr 2019, doi:10.1002/ajmg.b.32711.

[3] A. Sharma and J. Couture, "A Review of the Pathophysiology, Etiology, and Treatment of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD)", *Ann Pharmacother*, vol. 48, no. 2, pp. 209-225, Feb 2014, doi:10.1177/1060028013510699.

[4] T. A. Pickens, S. P. Khan, D. J. Berlau, "White noise as a possible therapeutic option for children with ADHD", *Complement Ther Med*, vol. 42, pp. 151-155, Feb 2019, doi:10.1016/j.ctim.2018.11.012.

[5] E. Sciberras, M. Mulraney, D. Silva, D. Coghill, "Prenatal Risk Factors and the Etiology of ADHD—Review of Existing Evidence", *Curr Psychiatry Rep,* vol. 19, no. 1, Jan 2017, doi:10.1007/s11920-017-0753-2.

[6] G. Donzelli, A. Carducci, A. Llopis-Gonzalez, M. Verani, A. Llopis-Morales, L. Cioni, M. M. Suárez-Varel, "The Association between Lead and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Systematic Review", *Int J Environ Res Public Health*, vol. 16, no. 3, pp. 382, Jan 2019, doi:10.3390/ijerph16030382.

[7] Web de "TDAH y tú". http://www.tdahytu.es/saber-sobre-los-medicamentos-para-el-tdah/ .

[8] K. Larson, S. A. Russ, R. S. Kahn, N. Halon, "Psychopharmacology of ADHD in pediatrics: Current advances and issues", *Neuropsychiatr Dis Treat*, vol. 5, pp. 171-181, Apr 2009, doi:10.2147/ndt.s4075.

[9] J. Cheng, Z. Xiong, L. J. Duffney, J. Wei, A. Liu, S. Liu, G. J. Chen, Z. Yan, "Methylphenidate Exerts Dose-Dependent Effects on Glutamate Receptors and Behaviors", *Biol Psychiatry*, vol. 76, no. 12, pp. 953-962, Dec 2014, doi:10.1016/j.biopsych.2014.04.003.

[10] J. Flórez, Farmacología humana, Masson, 2ª Ed, pp. 499-500, 1992.

[11] C. Rozas, C. Carvallo, D. Contreras , M. Carreño, G. Ugarte, R. Delgado, M. L. Zeise, B. Morales. "Methylphenidate amplifies long-term potentiation in rat hippocampus CA1 area involving the insertion of AMPA receptors by activation of β-adrenergic and D1/D5 receptors" *Neuropharmacology*, vol. 99, pp. 15-27, Dec 2015, doi: 10.1016/j.neuropharm.2015.07.003.

[12] K. R. Urban, Y. Li, W. Gao, "Treatment With a Clinically-Relevant Dose of Methylphenidate Alters NMDA Receptor Composition and Synaptic Plasticity in the Juvenile Rat Prefrontal Cortex" *Neurobiol Learn Mem*, vol. 101, pp. 65-74, Mar 2013, doi: 10.1016/j.nlm.2013.01.004.

[13] E. Grünblatt, J. Bartl, S. Walitza, "Methylphenidate enhances neuronal differentiation and reduces proliferation concomitant to activation of Wnt signal transduction pathways", *Transl Psychiatry*, vol. 1, no. 8, pp. 51, Mar 2018, doi: 10.1038/s41398-018-0096-8.

[14] A. P. Groenman, L. J. S. Schweren, A. Dietrich, P. J. Hoekstra, "An update on the safety of psychostimulants for the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder", *Expert Opin Drug Saf*, vol. 16, no. 4, pp. 455-464, Apr 2017, doi: 10.1080/14740338.2017.1301928.

[15] J. Y. Shin, E. E. Roughead, B. J. Park, N. L. Pratt, "Cardiovascular safety of methylphenidate among children and young people with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): nationwide self controlled case series study", *BMJ*, vol. 353, pp. i3123, Jun 2016, doi: 10.1136/bmj.i3123.

[16] M. Ravi and A. Ickowicz, "Epilepsy, Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Methylphenidate: Critical Examination of Guiding Evidence", *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry*, vol. 25, no. 1, pp. pp. 50-58, Feb 2016, PMID: 27047557.

[17] H. Hovshoff, T. Banaschewski, J. K. Buitelaar, S. Carucci, D. Coghill, M. Danckaerts, R. W. Dittmann, B. Falissard, D. G. Grimshaw, C. Hollis, S. Inglis, K. Konrad, E. Liddle, S. McCarthy, P. Nagy, M. Thompson, I. C. Wong, A., Zuddas, E. J. Sonuga-Barke, "Reports of Perceived Adverse Events of Stimulant Medication on Cognition, Motivation, and Mood: Qualitative Investigation and the Generation of Items for the Medication and Cognition Rating Scale.", *J Child Adolesc Psychopharmacol*, vol. 26, no. 6, pp. 537-547, Aug 2016, doi: 10.1089/cap.2015.0218.

[18] A. Charach, E. Yeung, T. Climans, E. Lillie, "Childhood Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Future Substance Use Disorders: Comparative Meta-Analyses", *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, vol. 50, no. 1, pp. 9-21, Jan 2011, doi: 10.1016/j.jaac.2010.09.019.

[19] K. M. Kidwell, T. R. Van Dyk, A. Lundahl, T. D. Nelson, "Stimulant Medications and Sleep for Youth With ADHD: A Meta-analysis.", *Pediatrics*, vol. 36, no. 6, pp. 1144-1153, Dec 2015, doi: 10.1542/peds.2015-1708.

[20] L. E. MacKenzie, S. Abidi, H. L. Fisher, L. Propper, A. Bagnell, J. Morash-Conway, J. M. Glover, J. Cumby, T. Tomas, F. Schultze-Lutter, K. Pajer, M. Alda, R Uher, "Stimulant Medication and Psychotic Symptoms in Offspring of Parents With Mental Illness.", *Pediatrics*, vol. 137, pp. e20152486, doi: 10.1542/peds.2015-2486

Paula Cilleros Holgado recibió el título de Graduada en Bioquímica por la Universidad de Sevilla en 2019,y actualmente cursa el máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide, donde ejecutará su trabajo fin de máster y sus prácticas (CABD).

Rubén Jurado Escobar recibió el título de Graduado en Bioquímica por la Universidad de Sevilla y Málaga en 2019 y actualmente cursa el máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide, donde ejecutará su trabajo fin de máster y sus prácticas (CABD)

Rocío Piñero Pérez recibió el título de Graduada en Bioquímica por la Universidad de Sevilla y Málaga en 2019 y actualmente cursa el máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide, donde ejecutará su trabajo fin de máster y sus prácticas (CABD).

Xospata, nuevo fármaco huérfano

Alicia Moreno Pantoja

Resumen— La utilización de fármacos huérfanos como Xospata es imprescindible para el tratamiento de enfermedades poco comunes. En este caso, la enfermedad a tratar es la leucemia mieloide aguda, la cual presenta una mutación en FTL3. Este fármaco presenta ciertos efectos secundarios, aunque está dando muy buenos resultados hasta la fecha.

Palabras Claves— Xospata, FLT3, LMA, Gilteritinib

1. Introducción

Todas las personas pasan por algún momento en la vida en el que sus conocidos o hallegados tienen alguna enfermedad más o menos grave. Para todos aquellos, es imprescindible la investigación respecto a la anomalía que presentan, sin embargo, ¿son todas estudiadas por igual? La respuesta, tristemente, es no.

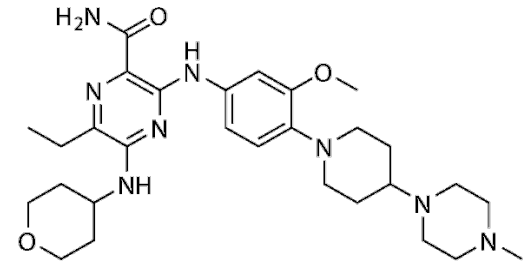
Existen enfermedades, llamadas huérfanas. Este nombre se debe a que son muy poco comunes en la sociedad, y, por tanto, menos estudiadas. El estudio o no de una enfermedad está muy relacionado con las muertes que ocasiona y su gravedad, ya que, dependiendo de las mismas, es más o menos rentable, en términos económicos, su estudio.
¿Tienen estas enfermedades menos importancia que otras más comunes? ¿Es ético que sigan siendo ignoradas enfermedades como estas?

Este año, 2019, se ha recomendado la aprobación de siete medicamentos por el Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP) de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA). De estos siete, cuatro son genéricos, dos innovadores y uno huérfano.
El fármaco huérfano aprobado es Xospata, de Astellas Pharma cuya función es tratar persona con leucemia mieloide aguda (LMA), la cual, es una enfermedad rara ya que solo afecta a 1 de cada 10000 personas en la Unión Europea. [1]

3. Xospata

3.1 ¿Qué es?

Este fármaco tiene como principio activo a Gilteritinib. Es usado para tratar la LMA en pacientes cuyo origen de la enfermedad se encuentra en la presencia del gen FLT3 mutado, el cual, es un biomarcador de dicha enfermedad.
FLT3 interviene en el proceso de hematopoyesis actuando como un receptor tirosina quinasa que estimula la proliferación de células hematopoyéticas. Mutaciones, como repeticiones en tándem en el gen, ocasionan la variante más frecuente en los pacientes que presentan LMA. [2]
Las cinasas son un conjunto de enzimas que llevan a cabo la proliferación celular, este fármaco, se une a dichas enzimas bloqueándolas y evita que las células cancerosas proliferen, retrasando en gran medida el desarrollo de esta enfermedad. Su dosis inicial suele ser de tres comprimidos al día pudiendo aumentarse a cinco según el efecto sobre el paciente, aunque antes del inicio del tratamiento se deben realizar unos análisis y un electrocardiograma. La aplicación de Xospata debe continuarse hasta hasta unos seis meses ya que la respuesta clínica es lenta. En caso de no mostrar mejoría en unas cuatro semanas, se deberá aumentar la dosis a unos 200 mg, siempre que el paciente lo tolere.
El uso de Xospata puede causar una condición que se llama síndrome de diferenciación, afectando a los glóbulos rojos. Suele ocurrir en las dos primeras semanas en las que se toma el medicamento, aunque podría retrasarse cierto tiempo. Es un efecto secundario de los medicamentos contra el cáncer afectando a las células leucémicas y liberando una gran cantidad de citosinas. Si este efecto secundario no es tratado con rapidez puede ocasionar la muerte de la persona. [3]



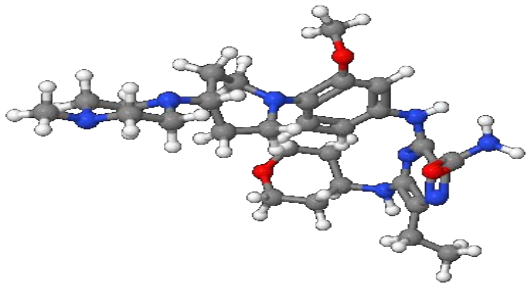


Fig.1. Fórmula estructural de Xospata en 2D y 3D [4]

3.2. Propiedades farmacocinéticas

Absorción

Tras la administración oral de este fármaco se realizó una mediana (medida bioestadística) en la que se comprobó que el $t_{máx}$, es decir, el tiempo que tarda el fármaco en llegar a su concentración máxima en sangre tras su administración está entre 4 a 6 horas. Se absorbe con una cinética de primer orden con una velocidad de absorción de 0.43 h^{-1}.

Biotransformación

Es metabolizado por CYP3A4 principalmente. Los metabolitos en humanos son M10, M17 y M16, aunque ninguno superó el 10% de la esposición a la sustancia original.

Interacciones a través de biotransportadores

Es sustrato de gp-P, pudiendo inhibir a BCRP y gp-P en el intestino delgado si hay una acumulación importante.

Eliminación

Es eliminado principalmente a través de las heces (64%) aunque también se elimina a través de la orina (16%).

Linealidad

Muestra una farmacocinética lineal que es proporcional a la dosis administrada. [5]

3.3. Posibles efectos secundarios

- Dolores musculares o dolor de cabeza
- Fiebre
- Neumonía
- Estreñimiento
- Diarrea
- Edema periférico
- Vómitos
- Úlceras
- Presión arterial baja
- Fatiga
- Problemas en la reproducción

Centrándonos en el problema de la reproducción, cabe mencionar que puede ocasionar graves problemas congénitos en el feto. Este problema se aplica tanto a hombres como mujeres.

Una mujer no debe quedarse en estado mientras esté tomando este medicamento, ni 6 meses después de dejar de tomarlo. En el caso de los hombres, no deben fecundar a una mujer durante el tratamiento ni 4 meses después de él.

Es posible que a las mujeres se les altere el ciclo menstrual, aunque esto no impide que se puedan quedar embarazadas.

Algunos efectos secundarios que son menos frecuentes, aunque, cabe mencionarlos son los siguientes:

- Síndrome de encefalopatía posterior reversible. Ocasiona pérdida de conciencia, convulsiones, problemas visuales…causa daños cerebrales sobre todo en la sustancia blanca de las regiones parieto occipatales.
- Prolongación del intervalo QT. Ocasiona una acelaración del ritmo cardíaco pudiendo ocasionar desde desmayos o convulsiones a muerte súbita.
- Pancreatitis. Inflamación del páncreas que ocasiona un desgaste del tejido pancreático funcional. La inflamación puede afectar a otros sistemas pudiendo ocasionar la muerte del paciente.[6] Este efecto secundario está muy relacionado con el consumo excesivo de alcohol.

Ante estos posibles efectos, se recomienda la interrupción, reducción o suspensión del medicamento.

Criterios	Dosificación
Síndrome de diferenciación	- Administrar corticoides. - Interrumpir la do-

	sis si el paciente sigue teniendo signos graves 48 horas después de administrar corticoides. - Volver a administrar la misma dosis cuando los signos graves disminuyan.
Síntomas de síndrome encefalopatía posterior reversible	Suspender la administración del fármaco.
Intervalo QT >500 mseg	Interrumpir la administración y volverla a iniciar con una dosis menor.
Síntomas de pancreatitis	Interrumpir hasta la desaparición de la pancreatitis y reanudar con una dosis menor.
Otra toxicidad de 3º grado o superior (pudiendo ser estos mortales)	Interrumpir tratamiento hasta un descenso en el grado de toxicidad.

Tabla 1. Recomendaciones para la interrupción, reducción o suspensión de la dosis de Xospata. [5]

3.4. Interacción con otros medicamentos

El principio activo de Xospata es metabolizado por las enzimas CYP3A. Se muestra como otros medicamentos pueden afectar el efecto de Xospata y viceversa.

1. Efecto de otros medicamentos sobre Xospata.
   Inductores de CYP3A. Disminuyen las concentraciones de Gilteritinib en el organismo.
   Inhibidores de CYP3A. De forma opuesta a lo anterior, aumentan las concentraciones en el organismo. En un sujeto sano, se administró una dosis de 10 mg de Gilteritinib administrada junto a un inhibidor de CYP3A provocó un aumento en la $C_{máx}$ media.
2. Efectos de Xospata sobre otros medicamentos. Actúa sobre aquellos fármacos cuyas dianas son el receptor $5HT_{2B}$ reduciendo los efectos de los mismos, por lo que no se recomiendo usarlos conjuntamente. [5]

3.5. Casos reales

Tras su aprobación, el medicamento ha dado muy buenos resultados.
Se están investigando medicamentos como midostaurin (Rydapt), sorafenib (Nexavar), quizartinib y crenolanib, medicamentos similares a Xospata (el cual también se encuentra en estudio). La Red Nacional Integral del Cáncer clasifica a los pacientes en tres grupos: favorable, intermedio y pobre.
Se ha estudiado el caso de un paciente con una mutación en FLT3 el cual, tiene como especial, que esta mutación desapareció tras una de las recaídas. El paciente sufrió varias recaídas en las que se diagnosticaron nuevos tipos de mutaciones, sin embargo, en el contexto del tratamiento con Xospata, no es normal que una mutación esté presente en una recaída y no en la siguiente, por esto se considera especial.
Se plantea la hipótesis de que la mutación en el dominio FTL3, se ocasionó por expasión clonal en la primera recaída y posteriormente desapareció. Mientras que la segunda recaída fue ocasionada por otra mutación en el dominio "salvaje" de FTL3 por expasión clonal.
A día de hoy, este paciente sigue siendo estudiado y presentando buenos resultados con el tratamiento con Xospata. [7]

3.6. ¿Hay alternativas a Gilteritinib?

Durante el ensayo de fase 3, investigadores, seleccionaron aleatoriamente adultos con LMA para recibir dosis de este fármaco o quimioterapia de rescate. Se estudió el porcentaje de supervivientes y de aquellos que sufrían remisión parcial y completa
Se observó que la media de supervivientes con el fármaco era mucho mayor que mediante quimioterapia de rescate. El porcentaje de remisión parcial con Gilteritinib era del 34% frente a un 15.3% correspondiente para la quimioterapia. Mientras que, el porcentaje para una remisión completa para el fármaco fue del 21.1% frente a un 10.5% para la quimioterapia.
Con los datos obtenidos se puede saber que el uso de este fármaco otorga mejores resultados que otras alternativas hasta el momento.

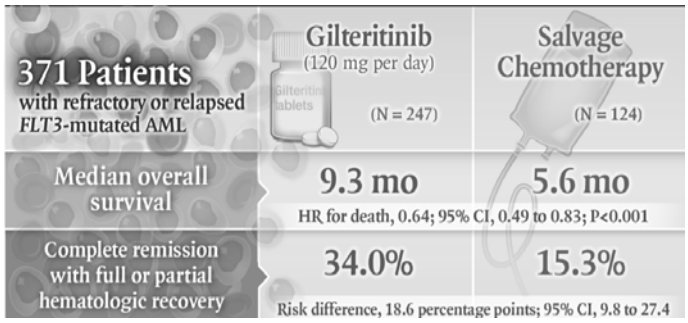


Fig.2. Gilteritinib vs quimioterapia de rescate.[8]

4. Conclusiones

A día de hoy, siguen existiendo muchas enfermedades que no tienen una cura definitiva, algo lógico, ya que, de forma general, mutaciones aleatorias generan nuevas enfermedades y problemas en los humanos. Por ello, es realmente importante la investigación y la promoción de la misma, con el fin de poder erradicar o frenar lo más posible el desarrollo de estas. Sobre todo, la investigación de enfermedades huérfanas. Es cierto que afectan a muy pocas personas en la población, pero, ¿eso es motivo para no investigarlas? ¿no tienen estas personas el mismo derecho a curarse que otras con enfermedades comunes?

Ante todo, es necesaria la concienciación respecto al hecho de que una vida vale más que el dinero que se pueda gastar en su erradicación. Se deberían generar campañas con todos aquellos que estén interesados en el tema con el objetivo de crear presión sobre las farmacéuticas y crear más asociaciones en las que se pueda ayudar económicamente a la investigación de dichas enfermedades.

Afortunadamente, poco a poco se está consiguiendo esto. La muestra está en la aprobación de medicamentos huérfanos como Xospata. Sin embargo, aún queda mucho camino por recorrer en este tema.

Referencias

[1] "Europa aprueba 7 nuevos fármacos para septiembre." [Online]. Available: https://www.redaccionmedica.com/secciones/industria/europa-aprueba-7-nuevos-farmacos-1-huerfano-4-genericos-y-2-innovadores-9671. [Accessed: 28-Nov-2019].

[2] "Meeting highlights from the Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) 16-19 September 2019 | European Medicines Agency." [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/news/meeting-highlights-committee-medicinal-products-human-use-chmp-16-19-september-2019. [Accessed: 28-Nov-2019].

[3] "Definición de síndrome de diferenciación - Diccionario de cáncer - National Cancer Institute." [Online]. Available: https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/797377. [Accessed: 28-Nov-2019].

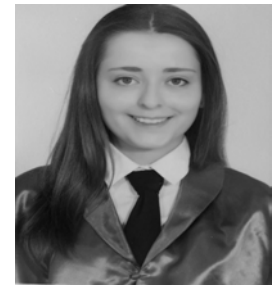
[4] "Xospata (tabletas de Gilteritinib): efectos secundarios, interacciones, advertencia, dosis y usos." [Online]. Available: https://www.rxlist.com/xospata-drug.htm#indications. [Accessed: 28-Nov-2019].

[5] CHMP, "ANEXO I FICHA TÉCNICA O RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO."

[6] "Gilteritinib (Xospata®) | OncoLink." [Online]. Available: https://es.oncolink.org/tratamiento-del-cancer/oncolink-rx/gilteritinib-xospata-r. [Accessed: 02-Dec-2019].

[7] K. W. Pratz *et al.*, "A pharmacodynamic study of the FLT3 inhibitor KW-2449 yields insight into the basis for clinical response," *Blood*, vol. 113, no. 17, pp. 3938–3946, 2009.

[8] "Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML | NEJM." [Online]. Available: https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1902688. [Accessed: 02-Dec-2019].



Alicia Moreno Pantoja nació el 25 de mayo de 1999 en Huelva. Se graduó en 2015 de Educación Secundaria Obligatoria en el colegio Cardenal Spínola y dos años más tarde, se graduó con honores de Bachillerato en el instituto IES José Caballero obteniendo el mejor expediente de su promoción. Actualmente, estudia tercero de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

Enfermedad de Lafora

Beatriz Pacheco-Sánchez

Resumen— La enfermedad de Lafora es una epilepsia mioclónica progresiva autosómica recesiva, debida a mutaciones en los genes EPM2A (laforina) y EPM2B (malina), sin diferencias sustanciales de genotipo-fenotipo entre los dos. Patológicamente, esta enfermedad se caracteriza por poliglucosanos distintivos, que son formaciones de glucógeno anormal. Los poliglucosanos o cuerpos de Lafora se encuentran típicamente en el cerebro, los hepatocitos periportales del hígado, los miocitos esqueléticos y cardíacos, y en el conducto ecrino y las células mioepiteliales apocrinas de las glándulas sudoríparas. A su vez, el curso de la enfermedad es progresivo y fatal, y la muerte ocurre dentro de los 10 años posteriores al inicio. Respecto al tratamiento, los fármacos antiepilépticos son los que suelen emplearse en pacientes que padecen la enfermedad. El diagnóstico y el asesoramiento genético son aspectos importantes de la enfermedad de Lafora, y el apoyo social es esencial en el manejo de la enfermedad. Las futuras terapias girarán en torno a la patogenia de la enfermedad. Actualmente, los esfuerzos para identificar compuestos o enfoques para reducir la síntesis de glucógeno cerebral parecen ser muy prometedores.

Palabras Claves—Enfermedad de Lafora, Cuerpos de lafora, Crisis epilépticas, Neurodegeneración, Enfermedad rara.

1. Introducción

La Enfermedad de Lafora es considerada una epilepsia mioclónica progresiva, grave, hereditaria y poco frecuente; un trastorno neurodegenerativo fatal caracterizado por la presencia de inclusiones intracelulares similares al glucógeno denominadas cuerpos de Lafora [1]. Las personas que padecen dicha enfermedad presentan mioclonos y/o convulsiones generalizadas, alucinaciones visuales (crisis parciales occipitales) y deterioro neurológico progresivo. Dicha enfermedad es rara en todo el mundo; sin embargo, tiene una mayor incidencia entre niños y adolescentes de ascendencia positiva. El inicio de la manifestación clínica normalmente comienza en el rango de 8-19 años de edad y alcanza su punto máximo alrededor de los 15 años [2].

El origen de la enfermedad de Lafora es debido a mutaciones de pérdida de función en los genes que codifican para las proteínas laforina (EPM2A) o para la malina (EMP2B o NHLRC1) [3, 4, 5], siendo su prevalencia estimada de cuatro casos por millón de habitantes mundialmente [6]. En los últimos años, 250 pacientes/familias han sido diagnosticados con la enfermedad de Lafora, de los cuales el 42% está causado por mutaciones en el gen EPM2A, y el resto, por mutaciones en el gen EPM2B. A su vez, la predisposición a padecer dicha enfermedad es mayor en países mediterráneos, Oriente Medio, el norte de África y el sur de la India, así como en regiones con una tasa alta de consanguinidad [7, 8].

En concreto, la enfermedad de Lafora es una enfermedad rara, poco común dentro de las enfermedades neurodegenerativas. En este artículo se exponen las bases de la enfermedad, así como su diagnóstico y tratamientos que han resultado ser eficaces en pacientes que padecen la enfermedad.

Beatriz Pacheco-Sánchez. Máster en Biotecnología Sanitaria, Universidad Pablo de Olavide. bpacsan@alu.upo.es

2. Bases Genéticas y Moleculares de la Enfermedad

2.1. Base Genética

Desde el punto de vista genético, la enfermedad de Lafora se desarrolla siguiendo un patrón de herencia autosómico recesivo. Los genes responsables del desarrollo de esta enfermedad se localizan en el cromosoma 6, el gen EPM2A (locus 6q24) y el gen EPM2B (locus 6p22) [9]. El gen EPM2A se identificó principalmente como responsable de la enfermedad de Lafora en el año 1998 [3, 4]; el cual codifica para la proteína laforina (fosfatasa con especificidad dual implicada en la desfosforilación del glucógeno y carbohidratos complejos). A su vez, el gen EPM2B o NHLRC1, fue descrito como causante de la enfermedad de Lafora en 2003 [5], y codifica la proteína malina, una E3 ubiquitina ligasa involucrada en la poliubiquitinación de proteínas relacionadas con el metabolismo del glucógeno y con procesos de autofagia, así como en la degradación de la laforina [10].

Actualmente, han sido identificadas casi 100 mutaciones diferentes en ambos genes en 200 familias independientes con enfermedad de Lafora. La enfermedad causada por diferentes mutaciones en ambos genes presenta manifestaciones clínicas similares, en cambio, la heterogeneidad clínica no puede asociarse a la presencia de la mutación causante de la enfermedad en uno u otro gen.

2.2. Base Molecular: Cuerpos de Lafora, Laforina y Malina.

Desde el punto de vista histopatológico, la enfermedad de Lafora principalmente se caracteriza por la acumulación intracelular de cuerpos de Lafora y, en segundo lugar, por la neurodegeneración [11].

Los cuerpos de Lafora son depósitos de poliglucosanos,

es decir, polisacáridos fibrilares de una forma ramificada anormal de glucógeno (Figura 1). Estas estructuras se diferencian del glucógeno normal al contener un menor número de ramificaciones glucosídicas, mayores niveles de fosfato (hay hiperfosforilación) y al ser insolubles. Los poliglucosanos son más parecidos en composición y estructura a la amilopectina de las plantas o el almidón, e incluso a los cuerpos amiláceos del cerebro, que al propio glucógeno [12]. A su vez, estos cuerpos de Lafora presentan un tamaño de entre 3 y 40 micras, contienen un núcleo denso y son teñidos fuertemente con la tinción de ácido peryódico de Schiff (PAS).

Dichas estructuras únicamente causan sintomatología cuando se localizan en el sistema nervioso central, sin embargo también pueden encontrarse en las neuronas del cerebro, los hepatocitos de la zona periportal, la retina, los miocitos del músculo esquelético y cardíaco, y las células mioepiteliales de glándulas sudoríparas apocrinas y ecrinas [13]. Se localizan en el soma/dendritas, nunca en los axones, siendo varios estudios los que han sugerido que la localización de los cuerpos de Lafora en las dendritas puede relacionarse con el inicio, la progresión y la intratabilidad de la enfermedad, puesto que éstas tienen un papel esencial en la excitabilidad neuronal [6].

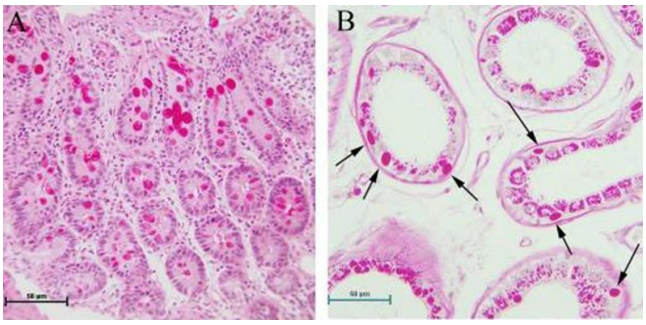


Figura 1. Enfermedad de Lafora en glándulas sudoríparas humanas. (**A**) Tinción PASD (tinción con ácido peryódico de Schiff y digestión con diastasa) de cuerpos de lafora en células dúctiles de glándulas sudoríparas ecrinas. (**B**) Tinción PASD de cuerpos de lafora en las células mioepiteliales de las glándulas sudoríparas apocrinas (flechas). Extraída de Turnbull *et al.* 2016 [6].

Además de la acumulación de los cuerpos de Lafora es importante comprender cómo la deficiencia de las proteínas laforina o malina conllevan a la acumulación de esta forma insoluble de glucógeno. El glucógeno cerebral interviene no sólo en el suministro de energía en situaciones de emergencia, sino también en otras funciones cerebrales superiores, como el aprendizaje y la memoria [14, 15]. Aunque las neuronas no almacenan glucógeno en condiciones normales, sí tienen la "maquinaria" necesaria para sintetizar glucógeno, expresando la isoforma muscular de la glucógeno sintasa (MGS), la cual se mantiene inactiva. A su vez, la laforina y la malina se unen formando un complejo que estimula la degradación de la MGS y la proteína dirigida al glucógeno (PTG) mediante el sistema ubiquitina-proteasoma, manteniendo inactivo el mecanismo de síntesis de glucógeno neuronal [16]. De esta manera, las proteínas laforina y malina inhiben la formación de cuerpos de Lafora y previenen la aparición de la enfermedad.

Asimismo, varios estudios han propuesto que la enfermedad conlleva alteraciones en los procesos de autofagia, los cuales podrían ser la base de la neurodegeneración observada [17]. Se ha demostrado que la reducción de la síntesis de glucógeno previene la formación de cuerpos de Lafora, la neurodegeneración y la susceptibilidad a convulsiones epilépticas, evitándose así el desarrollo de la enfermedad de Lafora.

3. Diagnóstico.

El diagnóstico de la enfermedad de Lafora debe de ser realizado sólo en el contexto clínico adecuado, basado en hallazgos clínicos (crisis epilépticas parciales o generalizadas, mioclonías, agnosia visual, deterioro cognitivo y neurológico, y síntomas neuropsiquiátricos), electrofisiológicos (cambios en el electroencefalograma), histológicos (acumulación de cuerpos de Lafora positivos en la PAS) y genéticos [6]. Los primeros indicios de sospecha para averiguar si un paciente podría presentar la enfermedad de Lafora es la presencia de una actividad de fondo formada por ritmo lento en el electroencefalograma, convulsiones resistentes a los fármacos, crisis occipitales y el deterioro cognitivo y neurológico.

Para realizar el diagnóstico de la enfermedad lo más empleado es la biopsia de la piel de las glándulas sudoríparas, es un método sencillo y eficaz por medio del cual el dermatólogo y el dermatopatólogo pueden colaborar con el neurólogo en el diagnóstico [18]. Sin embargo, la interpretación de la muestra pueden conllevar a falsos negativos, en pacientes con síntomas en etapas tempranas, o falsos positivos, debido a la dificultad de distinguir los cuerpos de Lafora de otros polisacáridos normales positivos en la PAS de las glándulas apocrinas [19]. Gracias a estudios realizados se conoce que los cuerpos de Lafora no se encuentran en pacientes portadores, de forma que no se pueden utilizar como prueba de despistaje. Se desconoce si están presentes en las fases preclínicas de la enfermedad, por lo que no se considera su uso como prueba de diagnóstico precoz [20].
Es por dicho motivo que se realizan análisis genéticos para confirmar la enfermedad de Lafora.

4. Tratamientos.

4.1. Intervención Farmacológica

Puesto que la enfermedad de Lafora es una condición rara, no puede considerarse como un problema de salud pública (ya que los costos son limitados por el pequeño número de personas afectadas), y es por ello que en la actualidad no se dispone de un tratamiento específico para la enfermedad. No obstante, es recomendable un abordaje multidisciplinario con el objeto de brindar mayores posibilidades de mejoría sintomática, siendo algunos de los empleados:

Fármacos Antiepilépticos.

Con la progresión de la enfermedad de Lafora, el tratamiento con fármacos antiepilépticos (AED), el cual es el que los pacientes generalmente reciben, progresa a politerapia con una combinación de varios medicamentos. Las combinaciones comúnmente utilizadas son ácido valproico (VPA) + topiramato (TPM) o Zonisamida (ZNS) o levetiracetam (LEV), con benzodiacepinas (BZD) adicional; una combinación de 3 a 5 fármacos lo cual es bastante común [6].

Después de la primera convulsión tónico-clónica generalizada (GTCS), suele emplearse ácido valproico. Dicho fármaco suele ser eficaz para suprimir, durante algún tiempo, la mayoría de los GTCS, los síntomas asociados con la sensibilidad fótica y algunos de los mioclonos. Además, durante esta etapa otros fármacos antiepilépticos empleados son: la lamotrigina (LTG), no es muy recomendable en el contexto de una epilepsia mioclónica, pero puede ayudar de manera transitoria; el fenobarbital (PB) y la primidona (PRM) son efectivos, pero a menudo se usan en dosis altas y sus efectos cognitivos se agregan a los de la afección; y levetiracetam (LEV), se usa cada vez más temprano en adolescentes que padecen la enfermedad de Lafora, , incluso antes de la confirmación del diagnóstico. Otros fármacos útiles incluyen topiramato (TPM) y zonisamida (ZNS), que tienen efectos antimiclónicos marcados en algunos pacientes. Se puede obtener un alivio adicional, a menudo de forma transitoria, con etosuximida, felbamato, metsuximida y benzodiacepinas (BZD). Este último (generalmente clobazam, clonazepam y diazepam) debe usarse con cuidado ya que existe un marcado efecto inicial seguido de una rápida tolerancia [6].

Actualmente, se está realizando un amplio estudio sobre los efectos beneficiosos de perampanel [21]. Perampanel es un medicamento antiepiléptico antagonista no competitivo y selectivo de los receptores ionotrópicos de glutamato de tipo AMPA en las neuronas postsinápticas. Presenta efectos beneficiosos en la frecuencia de las convulsiones, las mioclonías y las crisis tonicoclónicas generalizadas, en la disfunción cognitiva y neurológica [11].

Estimulación del Nervio Vago

Hasta la fecha de hoy, se han descrito dos casos de pacientes en los que se ha producido una mejora de los síntomas mediante el implante de un estimulador del nervio vago [22]. Tras un año de seguimiento, los pacientes demostraron un cese de los episodios de GTCS y estado epiléptico, además de una disminución significativa en el mioclono y reducción moderada en la sintomatología cerebelosa [23]. Se ha propuesto que el mecanismo por el cual esta técnica funciona debe implicar alteraciones en la modulación de neurotransmisores de la irritabilidad cortical [22].

Ácido 4-fenilbutírico y metformina

Ambos fármacos han sido puestos a prueba en ratones, como modelos animales para el estudio de la enfermedad, observándose una disminución del número de cuerpos de Lafora, una reducción de la neurodegeneración y de la gliosis, así como una mejora en el comportamiento motor y la memoria tras su aplicación. Además, se ha descrito una disminución de la susceptibilidad a las convulsiones y se ha producido una reducción tanto en su número como en su duración, así como un efecto positivo en la hipersensibilidad al agente epileptógeno pentilenotetrazol [24].

Selenato sódico

El selenio es un potente antioxidante y su deficiencia se ha relacionado con el desarrollo de ciertas enfermedades, incluida la epilepsia, es por ello que se han realizado estudios para tratar la enfermedad de Lafora. El objetivo de estos estudios era investigar si el tratamiento con selenato de sodio mejoraba las alteraciones neurológicas y la hiperexcitabilidad presente en el modelo de ratón, y se observó que se producía una mejora de la degeneración neuronal y de la gliosis [25].

4.2. Intervención No Farmacológica

Intervención Psicoeducativa y Fisioterapéutica

En la enfermedad de Lafora, debido a la temprana edad de inicio (dentro del rango de 8-19 años) el apoyo social es al menos tan importante como el tratamiento médico. Acompañando al deterioro neurológico y cognitivo, aparecen frecuentemente de manera temprana diferentes síntomas psiquiátricos, como pueden ser alteraciones conductuales, depresión, apatía, confusión o sintomatología psicótica [21]. Al inicio de las convulsiones, los pacientes generalmente están en la escuela secundaria y experimentan dificultades crecientes con los requisitos académicos. Para permitirles mantener contactos sociales, es mejor mantener la escolarización el mayor tiempo posible, mientras se negocia con los maestros sobre el rendimiento académico, así como intervención psicoeducativa. Existen por tanto organizaciones de pacientes que pueden proporcionar apoyo psicológico profesional durante las primeras etapas de la afección.

Conforme avanza la enfermedad, el deterioro comienza a afectar gravemente al resto de las funciones, produciéndose también disminución del tono muscular y espasticidad. Así mismo, el último período se caracteriza por una dependencia creciente a medida que el paciente queda en silla de ruedas y, más tarde, postrado en cama. Debido a esto, es esencial la intervención fisioterapéutica con fin de mantener una buena condición muscular y preservar la movilidad durante el mayor tiempo posible.

5. Conclusiones

La enfermedad de Lafora es una patología rara que tiene graves consecuencias para los pacientes y sus cuidadores a pesar de su baja prevalencia. Por lo tanto, es necesario continuar la investigación para aclarar los mecanismos subyacentes y, poder desarrollar nuevos tratamientos paliativos y curativos para la enfermedad.

REFERENCIAS

[1] Gayarre, J., Duran-Trío, L., Criado-Garcia, O., Aguado, C., Juana-López, L., Crespo, I., Knecht, E., Bovolenta, P., & Rodríguez de Córdoba, S. (2014). The phosphatase activity of laforin is dispensable to rescue Epm2a -/- mice from Lafora disease. *Brain*, 137(3):806-18.

[2] Al Mufargi, Y., Qureshi, A., & Al Asmi, A. (2020). Lafora Disease: Report of a Rare Entity. *Cureus*, 12 (1): e6793

[3] Minassian, B.A., Lee, J.R., Herbrick, J.A., Huizenga, J., Soder, S., Mungall, A.J., *et al*. (1998). Mutations in a gene encoding a novel protein tyrosine phosphatase cause progressive myoclonus epilepsy. *Nature Genetics*, 20 (2): 171-4.

[4] Serratosa, J.M., Gómez-Garre, P., Gallardo, M.E., Anta, B., Beltrán-Valero de Bernabé, D., Lindhout, D., *et al.* (1999). A novel protein tyrosine phosphatase gene is mutated in progressive myoclonus epilepsy of the Lafora type (EPM2). *Human Molecular Genetics*, 8 (2): 345-52.

[5] Chan, E.M., Young, E.J., Ianzano, L., Munteanu, I., Zhao, X., Christopoulos, C.C., *et al*. (2003). Mutations in NHLRC1 cause progressive myoclonus epilepsy. *Nature Genetics*, 35 (2): 125-7.

[6] Turnbull, J., Striano, P., Genton, P., Carpenter, S., Ackerley, C.A., & Minassian, B.A. (2016). Lafora disease. *Epileptic Disorders*, 18(2): 38-62.

[7] Minassian, B.A. (2001). Lafora's disease: towards a clinical, pathologic, and molecular synthesis. *Pediatric Neurology*, 25(1): 21–29.

[8] Striano, P., Zara, F., Turnbull, J., *et al.* (2008). Typical progression of myoclonic epilepsy of the Lafora type, a case report. *Nature Clinical Practice Neurology*, 4(2): 106–111.

[9] Turnbull, J., Girard, J.M., Lohi, H., Chan, E.M., Wang, P., Tiberia, E., Omer, S., Ahmed, M., Bennett, C., Chakrabarty, A., Tyagi, A., Liu, Y., Pencea, N., Zhao, X., Scherer, S.W., Ackerley, C.A., & Minassian, B.A. (2012). Early-onset Lafora body disease. *Brain*, 135 (Pt 9): 2684-98.

[10] Gentry, M.S., Worby, C.A., Dixon, J.E. (2005). Insights into Lafora disease: malin is an E3 ubiquitin ligase that ubiquitinates and promotes the degradation of laforin. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 102 (24): 8501-6

[11] Desdentado, L., Espert, R., Sanz, P., & Tirapu-Ustárroz, J. (2019). Enfermedad de Lafora: revisión de la bibliografía. *Revista de Neurología*, 68 (2): 66-74.

[12] Roach, P.J. (2015). Glycogen phosphorylation and Lafora disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 46: 78-84.

[13] Shirozu, M., Hashimoto, M., Tomimatsu, M., Nakazawa, Y., Anraku, S., & Nagata, M. (1985). Lafora disease diagnosed by skin biopsy. *Kurume Medical Journal*, 32: 311-3.

[14] Obel, L.F., Müller, M.S., Walls, A.B., Sickmann, H.M., Bak, L.K., Waagepetersen, H.S., *et al*. (2012). Brain glycogen –new perspectives on its metabolic function and regulation at the subcellular level. *Front Neuroenergetics*, 4: 3.

[15] Durán, J., Saez, I., Gruart, A., Guinovart, J.J., & Delgado-García, J.M. (2013). Impairment in long-term memory formation and learning-dependent synaptic plasticity in mice lacking glycogen synthase in the brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 33 (4): 550-6.

[16] Vílchez, D., Ros, S., Cifuentes, D., Pujadas, L., Vallès, J., García-Fojeda, B., *et al.* (2007). Mechanism suppressing glycogen synthesis in neurons and its demise in progressive myoclonus epilepsy. *Nature Neuroscience*, 10 (11): 1407-13.

[17] Durán, J., Gruart, A., García-Rocha, M., Delgado-García, J.M., & Guinovart, J.J. (2014). Glycogen accumulation underlies neurodegeneration and autophagy impairment in lafora disease. *Human Molecular Genetics*, 23 (12): 3147-56.

[18] Nagore-Enguídanos, E., Sánchez-Motilla, J.M., Santonja-Llabata, J.M, Pareja-Mártinez, A., & Aliaga-Boniche, A. (2000). Casos clínicos. Enfermedad de Lafora. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 91:517-520.

[19] Andrade, D.M., Ackerley, C.A., Minett. T.S., Teive, H.A., Bohlega, S., Scherer, S.W., *et al*. (2003). Skin biopsy in Lafora disease: genotype-phenotype correlations and diagnostic pitfalls. *Neurology*, 61(11): 1611-4.

[20] Busard, H.L., Gabreels-Festen, A.A., Reiner, W.O., Gabreels, F.J., & Satadhouders, A.M. (1987). Axilla skin biopsy: a reliable test for the diagnosis of Lafora's disease. *Annals of Neurology*, 21(6):599-601.

[21] Schorlemmer, K., Bauer, S., Belke, M., Hermsen, A., Klein, K.M., Reif, P.S., Oertel, W.H., Kunz, W.S., Knake, S., Rosenow, F., & Strzelczyk, A. (2013). Sustained seizure remission on perampanel in progressive myoclonic epilepsy (Lafora disease). *Epilepsy & Behavior Case Reports*, 1: 118-21.

[22] Mikati, M.A., & Tabbara, F. (2017). Managing Lafora body disease with vagal nerve stimulation. *Epileptic Disord*; 19: 82-6

[23] Hajnsek, S., Petelin-Gadze, Z., Borovecki, F., *et al.* (2013). Vagus nerve stimulation in Lafora body disease. *Epilepsy & Behavior Case Reports*, 1: 150-2.

[24] Sánchez-Elexpuru, G., Serratosa, J.M., Sanz, P., Sánchez, M.P. (2017a). 4-phenylbutyric acid and metformin decrease sensitivity to pentylenetetrazol-induced seizures in a malin knockout model of Lafora disease. Neuroreport, 28(5): 268-71.

[25] Sánchez-Elexpuru, G., Serratosa, J.M., Sánchez, M.P. (2017b). Sodium selenate treatment improves symptoms and seizure susceptibility in a malin-deficient mouse model of Lafora disease. Epilepsia, 58(3): 467-75.

Beatriz Pacheco-Sánchez, graduada en Biotecnología por la Universidad de Almería en 2019, cursa actualmente la modalidad de Nuevos Fármacos del Máster en Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

¿Qué es la animación y cuál es el papel del programador en ella?

Raquel Benítez Merón

Resumen—Todo el mundo ha visto una película o jugado a algún videojuego, pero ¿sabemos qué hay detrás de todo esto realmente? En este artículo vamos a explicar las diferentes fases por las que pasa una producción 3D antes de llegar a nosotros y, sobre todo, cuál es el papel de un programador en una producción de esta índole.

Palabras Claves— Animación, 2D, 3D, Renderizado, Render, Computación gráfica, Producción audiovisual, Videojuegos

1. Introducción

Una película como un videojuego son resultados de un proceso de producción 3D. Una película cuenta con un equipo detrás cuya función es controlar luces, sonidos, imagen… Del mismo modo un video juego tiene también un equipo detrás que realiza la misma función de un modo no tan diferente.

La primera película hecha totalmente mediante computación gráfica fue Toy Story en 1995 [1], a pesar de que ya se había hablado previamente de computación gráfica en 1888 cuando Émile Reynaud, padre del cine de animación, inventó el praxinoscopio [2], un utensilio óptico el cual se utilizaba como una técnica

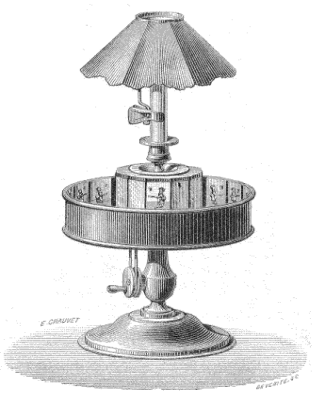


Fig. 1. Praxinoscopio

pre-cinematográfica de animación.

El 18 de octubre de 1958, el físico William Higinbotham presentaba el considerado el primer videojuego de la historia. El juego se llamó Tennis for Two [3], fue desarrollado a partir de una computadora analógica conectada a un osciloscopio, que hacía además de monitor.

Tanto las películas como los video juegos, son ambas dos tipos de producciones diferentes: producción audiovisual y producción de videojuegos. Ambas tienen un componente de animación por computador. La animación por computador, es una técnica que consiste en crear imágenes en movimiento mediante creación de objetos animadores y un proceso de renderizado.

Las fases de una producción audiovisual son: preproducción, producción y postproducción. En la fase de preproducción se desarrolla la idea, se busca la estética que casa mejor con ella y se establecen las herramientas van a necesitarse para ser desarrollarla. En la producción se crean los elementos necesarios para poder llevar a cabo la idea; y, finalmente en la fase de postproducción se realiza el montaje, lanzamiento y se pone en marcha la campaña de marketing.

Las fases de una producción de videojuegos no dista mucho de las de una producción audiovisual, cuenta con una fase de preproducción en la cual se refina la idea y se diseña el juego; una fase de producción en la cual se realizan el diseño artístico y el desarrollo técnico; y por último un proceso de postproducción en la cual se realizan test lanzando versiones beta en distintas zonas para corregir posibles errores, se distribuye el producto y para finalizar se pone en marcha la campaña de marketing.

Ambas producciones tienen unas necesidades técnicas de hardware, equipo de trabajo, horas de compu-

tación e inversión económica grandes. Se necesitan muchísimas horas para el diseño, y el renderizado, son muchos objetos los que deben crearse y muchos detalles para tener en cuenta.

Como vemos ambas producciones están estrechamente relacionadas con la computación gráfica [4], en especial la producción de videojuegos. Podríamos definir la computación gráfica como la creación y retoque de imágenes mediante un computador. Podemos recalcar dos tipos: 2D y 3D [5].

En la animación 2D los gráficos se representan mediante un mapa de bits, es decir, un grid bidimensional (x,y) en el cual se almacenan píxeles. Cada píxel recibe información de color, brillo y transparencia.

En la animación 3D añadimos el vector profundidad (x,y,z) al grid de pixels, dando una impression de mayor realismo. Para introducir la información de la unión de dos puntos lo hacemos mediante vectores formando así polígonos. Cada píxel almacena información, además, sobre sombras, luces, texturas…

Fig 2. Modelado 3D [7]

2. Animación 3D

Para programar una animación 3D [6] el programador usa un lenguaje particular para describir los objetos que componen las escenas con las capacidades dinámicas e interactivas de cada uno. Son estos objetos los que llamamos animadores. Los animadores son objetos con capacidad para ser animados, es decir, para ponerse en movimiento.

Una animación se entiende como una escena descrita al detalle. La descripción de la escena consta de la posición y orientación de los objetos que la componen, el material del que están hechos, el tipo de luz utilizado en la animación y la posición y orientación del punto en desde el que se les mira, iluminación global... Una vez tenemos construida la escena podemos incorporar aspectos dinámicos a los objetos describiendo cómo varían en el tiempo sus atributos, cuantos más frames se describen más natural es el movimiento, aunque lo realmente indispensable es conocer la posición inicial y la posición final del objeto.

La especificación de estos atributos es una tarea complicada que requiere de un programador especializado en animaciones.

3. Renderizado

¿Cómo “damos vida” a nuestras animaciones? Esto se lleva a cabo mediante el render o renderizado. El render [8] es el resultado final de una sucesión de cálculos que tiene que realizar una máquina para generar una imagen hecha por computador. Cuantos más atributos añadimos a los pixels, más complejo y por tanto, más pesado es este trabajo. Uno de los cálculos que podemos pedir que haga es, por ejemplo, el de iluminación global, éste dotaría de realismo a nuestra animación.

El proceso de renderizado lo llevan a cabo una serie de algoritmos cuya función es realizar los cálculos pertinentes para conseguir la información necesaria de los elementos visibles en escena y generar así una representación gráfica bidimensional de estos. Estos algoritmos son principalmente algoritmos geométricos, de iluminación, partículas, materiales…

Existen dos tipos de renderizado: online y offline. El renderizado online es usado principalmente para videojuegos o aplicaciones, mientras que el renderizado offline es utilizado más bien para producciones audiovisuales.

Este proceso no se lleva a cabo en una sola máquina, ya que tardaría demasiado. Se utilizan granjas de ren-

der, eso no son más que muchas máquinas trabajando de forma simultánea en el proceso de renderizado.

4. Conclusiones

La aportación de un programador en una producción de animación es muy importante, ya que como se ha mencionado anteriormente el renderizado pone a trabajar algoritmos que deben ser programados y participan en la especificación de los atributos de las animaciones. Aunque podemos acceder a másters relacionados con el campo de la Animación desde diferentes grados, es cierto que partir desde un grado en ingeniería informática tiene sus beneficios en este mundo.

Referencias

[1] Walt Disney. - http://www.digitaliapublishing.com/a/3784

[2] Praxinoscopio - https://www.patrimonionacional.es/colecciones-reales/juegos-y-diversiones/praxinoscopio

[3] Tennis For Two - https://www.bnl.gov/about/history/firstvideo.php

[4] «Computer Graphics». - http://www.comphist.org/computing_history/new_page_6.htm

[5] «Animación tradicional y la animación 3d». - http://www.mediummultimedia.com/spots-publicitarios-animacion-3d-ecuador/

[6] «Gráficos 3D por computadora - https://www.ecured.cu/Gr%C3%A1ficos_3D_por_computadora

[7] https://www.cice.es/noticia/que-puedes-hacer-animacion-3d/

[8] ¿Qué es el render? - VFXMAKER - https://vfxmaker.wordpress.com/2015/12/26/que-es-el-render/

[9] Web de Unity. https://unity.com/community

[10] Web de Blender. https://www.blender.org/community/

Raquel Benítez Merón, estudiante de 2º curso de Ingeniería Informática en Sistemas de Información, en la Universidad Pablo de Olavide.

Evolución y comparación de los sistemas operativos en dispositivos inteligentes

Daniel Costel Chivu

Resumen— La tecnología representa un gran porcentaje de la vida del ser humano, pero la gran mayoría no sabe en qué estaba basada ni con qué interactúa diariamente. Los dispositivos inteligentes están cada vez más presentes en nuestras vidas, hogares, cocinas, salones, etc. Se verá como han evolucionado; los sistemas que utilizan y la comparación de los más importantes.

Palabras Claves— Dispositivo, interactuar, inteligente, sistema operativo, software.

1. Introducción y Objetivos

Hoy en nuestro día a día nos podemos topar con dispositivos que van desde teléfonos inteligentes, televisiones inteligentes, pantallas inteligentes, lavadoras inteligentes, relojes inteligentes, etc. Hemos llegado al punto de qué a cualquier dispositivo electrónico al cual le incluimos una pantalla o interfaz para facilitar su interacción con el usuario se convierte en un útil que hace 40 años nos parecía algo inimaginable, pero ¿cómo hemos llegado a este punto?

Vivimos en una sociedad en la que la tecnología evoluciona de manera vertiginosa desde la década de los 90. Ha sido este el avance que nos ha permitido que volvamos "inteligente" todos estos dispositivos. Con la implementación de un sistema operativo en estos artilugios hemos conseguido transformar nuestros télefonos cuya principal función era llamar en un "mini-ordenador", al igual que los relojes que antaño daban únicamente la hora del día, se han convertido en otro artefacto más de esta era tecnológica incesante.

Algunos de los sistemas operativos más comúnes y presentes en nuestras vidas son: Android, IOs, Windows Phone, Linux y otros. Android tiene el honor de ser el sistema operativo más utilizado en la mayoría de los aparatos inteligentes. En este artículo se tratará de explicar el comienzo, la evolución y comparación de estos sistemas.

2. Definición, evolución y desarrollo de un sistema operativo

2.1. Definición

Un sistema operativo (SO o OS del inglés operating system) es el software principal o conjunto de programas de un sistema informático que gestiona los recursos de hardware y provee servicios a los programas de aplicación de software. El manejo de un dispositivo inteligente ya sea un ordenador, móvil o una tablet se realiza sobre la capa que interactúa con el usuario, llamada interfaz de usuario. Esta capa transmite las ordénes del usuario a la capa inferior llamada capa de aplicación la cuál actuá directamente con el sistema operativo. Una vez se llega al sistema operativo este es el encargado de efectuar, lanzar y realizar los procesos, hilos y ejecuciones de los programas que éste mismo estime oportuno para que la capa más baja que es el hardware acate las instrucciones que el usuario ha dado a la interfaz. En definitiva, un sistema operativo es el software principal que gestiona los recursos de hardware y provee servicios a los programas de aplicación de software.

2.2. Evolución y desarrollo de un sistema operativo

Antes de existir el concepto que hoy conocemos como Sistema Operativo los programadores interactuban de forma directa con el hardware de las máquinas en el lenguaje binario, es decir, unos y ceros. No fue hasta la década de los 50 concretamente en 1956 que surgió el primer SO que fue creado para un ordenador IBM 704.

En los años 70 se produce el gran boom de ordenadores personales, lo que posteriormente desemboca en la creación de sistemas operativos fáciles de manejar ya que la mayoría de los usuarios no disponían de conocimientos sobre lenguajes de bajo o alto nivel de máquina.

Diez años más tarde nacen los sistemas operativos que tenemos en nuestros días como MacOS, Windows y MS-DOS.

Finalmente, en los 90 aparece Linux, uno de los sistemas operativos de software libre que está a la disposición de cualquier usuario en nuestros días.

3. Sistemas operativos en un dispositivos inteligentes

No sería hasta el principio del siglo XXI, en concreto, el 29

Daniel Costel Chivu. Escuela Politecnica Superior, Universidad Pablo de Olavide. dcchi@upo.alu.es.

de junio de 2007 día en el que Apple lanzó al mercado el primer software para dispositivos móviles llamada iOS. Su principal adversario en el mercado solo tardaría un año en aparecer. Con más del 84% del mercado de dispositivos móviles; Android se ha consagrado como el líder de Sistemas Operativos en teléfonos móviles en nuestros días, dejando a iOS con el resto del mercado móvil. Otros sistemas que aparecieron posteriormente fueron: Windows Phone, BlackBerry OS o Symbian OS.
Dichos SO no tuvieron el mismo éxito que Android e iOS que de forma paulatina, arrasaron el mercado de los dispositivos inteligentes. Algunos como Windows Phone desparecieron por su poco éxito, al igual que BlackBerry OS.

3.1 OTROS DISPOSITVOS INTELIGENTES

Dispositivos inteligentes como televisiones o más conocidas como Smart TV no se pusieron a la venta hasta el año 2010. Una Smart TV es un televisor inteligente que mediante un sistema operativo realiza tareas de manera similar a un ordenador y permite la conexión a Internet.

Las pulseras inteligentes o smartwatch permiten que desde la comodidad de tu muñeca puedas visualizar información sobre tu día a día, a la vez que está queda almacenada en tu teléfono móvil.

Tras varios intentos fallidos de smartwatch, en el año 2013 la compañía coreana Samsung lanza al mercado el "Samsung Galaxy Gear", el cual sería el predecesor de los relojes inteligentes modernos.

4. COMPARACIÓN DE LOS SISTEMAS OPERATIVOS

El sistema operativo móvil más utilizado en 2020 no es otro que Android. Android ha conseguido estar en el primer puesto por su grado de compatibilidad con respecto a otros SO.

Por otro lado, su principal oponente iOS también se ha conseguido consolidar con un porcentaje del mercado móvil, eso sí mucho menor. Los usuarios que han utilizado ambos sistemas operativos no han logrado despejar sus dudas aún. ¿Es Android el mejor SO del mercado?, debido a su dominio general, ¿o solo es debido a su compatibilidad?
La duda reside en qué debe tener un dispositivo móvil para generar confianza y seguridad.

4.1. Android vs iOS

Como se lleva mencionando durante todo el artículo los sistemas líderes en dispositivos inteligentes son Android e iOs. A continuacción haremos las respectivas comparaciones para disipar las dudas.

- **A nivel de software:**

Android	iOs
Núcleo basado en Linux	Núcleo basado en Unix
Código Abierto	Código Cerrado

- **A nivel de seguridad:**

Android	iOs
Posibilidad de hallar sus vulnerabilidades y aprovecharlas.	Código cerrado lo que dificulta la localización de debilidades en el sistema.
Facilidad de desarrollo de contramedidas que garanticen la robustez del sistema.	Dificultad en desarrollar contramedidas.
Implementación del SO en muchas marcas sin ninguna exclusividad.	Exclusividad a los dispositivos de la marca Apple Inc.

- **A nivel de actualización:**

Android	iOs
Implementación de manera gradual de la última versión.	Implementación rápida de la última versión del software.
Exclusividad en las actualizaciones para los últimos dispositivos inteligentes.	Actualizaciones disponibles para la mayoría de los terminales.

5. CONCLUSIONES

La implementación de los sistemas operativos en casi cualquier tipo de dispositivo inteligente ha logrado que diariamente se manejen miles de millones de datos a nivel global. La información, hoy en día, es algo que ha perdido su valor y es porque no somos concientes de lo que sujetamos en nuestras manos.
Los SO intentan estar siempre a la última y garantizar seguridad y fiabilidad al usuario, aunque no siempre se pueda conseguir.

Como conclusión, debemos intentar ser capaces de entender minímamente el funcionamiento de los artilugios intelignetes que utilizamos todos los días. Un sistema operativo funcione en un terminal inteligente o en una computadora no es más que un conjunto de programas que se encarga de efectuar las órdenes del usuario.

REFERENCIAS

[1] http://exa.unne.edu.ar/informatica/SO/Sistemas_Operativos_en_Dispositivos_Moviles.pdf
[2] https://es.wikipedia.org/wiki/Sistema_operativo
[3] https://www.fib.upc.edu/retro-informatica/historia/so.html

[4] https://www.compudabo.com.mx/smartwatch-el-reloj-inteligente.aspx
[5] https://nordvpn.com/es/blog/android-vs-ios/
[6] https://es.digitaltrends.com/celular/sistemas-ios-y-android/
[7] https://culturacion.com/ios-el-sistema-operativo-movil-de-apple/
[8] http://www.mundomanuales.com/telefonia/telefonos-moviles/que-es-android-caracteristicas-y-aplicaciones-4110.html

Daniel Costel Chivu 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 de Ciencias en el Instituto Juan Ciudad Duarte en Bormujos (Sevilla), estudios que finalizó en el año 2017. Su interés y curiosidad por la tecnología le llevo a ingresar en la carrera de Ingeniería Informática en Sistemas de Información, además de mostrar siempre un amplio interés en la ciencia.

Criptografía y seguridad informática

Daniel Ramírez Bermúdez

Resumen—— En los últimos tiempos, las comunicaciones a través de Internet y otros medios digitales se han multiplicado enormemente, propiciando que la información transmitida se exponga a cientos de peligros potenciales. Este artículo trata de exponer algunas de las técnicas utilizadas actualmente que garantizan la seguridad e integridad de dicha información.

Palabras Claves— Informática, Seguridad, Cifrado, Datos, Algoritmos, Criptografía, Criptosistemas.

1. Introducción

En la actualidad, las tecnologías de la información y la comunicación (TIC), y concretamente la informática, son parte esencial de nuestra sociedad y de la cotidianidad de los individuos que la forman. El aumento del uso de estas herramientas por parte de particulares, empresas y organizaciones, ha derivado en un creciente interés en proteger los millones de datos que son diariamente producidos, almacenados y enviados utilizando estas tecnologías [1].

La seguridad informática o ciberseguridad es el área relacionada con la informática encargada de la seguridad y protección de todo lo relacionado con las infraestructuras de computadores y, especialmente, de la integridad, privacidad y procesamiento de la información contenida en los distintos equipos que las forman. Además, ésta se ha convertido en los últimos años en una de las áreas con mayor relevancia dentro del ámbito tecnológico debido, sobre todo, al aumento de los ciberataques y al robo masivo de datos, que producen anualmente cuantiosos daños en materia tanto económica como humana [2].

2. Concepto de criptografía

La masificación de los ecosistemas digitales ha generado un número creciente de problemas en relación a la seguridad de la información que compartimos y almacenamos en nuestros equipos. Todas las comunicaciones y transacciones a través de la red son susceptibles de ser interceptadas, y, por tanto, deben aplicarse medidas que garanticen la seguridad de los datos [3].

La criptografía (del griego "kryptos" que significa oculto, y "graphia", que significa escritura) es un conjunto de técnicas que tratan de proteger y ocultar la información de observadores que no han sido autorizados para disponer de ella [4].

La criptografía trata, entre otras cosas, de que la información no sea vulnerada, interceptada o modificada. Igualmente, trata de evitar o dificultar los accesos no autorizados a redes privadas y la denegación de determinados servicios. También, gracias a este conjunto de técnicas, se proporciona tanto soporte como seguridad a las redes telemáticas y de comunicación de la actualidad, permitiéndonos la confidencialidad e integridad de los mensajes transmitidos. El objetivo principal de esta ciencia es, por tanto, cifrar y proteger todo tipo de mensajes mediante algoritmos, usando una o más claves de cifrado [4][5].

En la actualidad, disponemos de diferentes tipos de sistemas de cifrado, denominados criptosistemas, que nos permiten asegurar aspectos básicos de la seguridad informática, tales como la autenticidad del emisor, la confidencialidad, la integridad y el secreto del mensaje. Estos aspectos son muy importantes en entornos de intercambio de información, sobre todo a través de Internet, y, de hecho, son los que permiten que podamos realizar de forma transparente y eficaz las actividades que se dan comúnmente en este tipo de sistemas [5].

2.1. Orígenes de la criptografía

La historia de la criptografía es extensa y destaca por la gran cantidad de técnicas de cifrado, desarrolladas por todo tipo de civilizaciones, que se han conservado hasta nuestros días.

Daniel Ramírez Bermúdez. Escuela Politécnica Superior, Universidad Pablo de Olavide. dramber@alu.upo.es.

Las primeras civilizaciones utilizaban técnicas que, actualmente, nos parecerían simples e incluso fáciles de descifrar. Éstas eran utilizadas comúnmente para ocultar los distintos mensajes que eran intercambiados durante las campañas militares, de modo que, si el mensajero era interceptado, la información que portaba no beneficiaría al enemigo [6].

Se cree que el primer sistema criptográfico fue creado por el escritor griego Polybios, que consistía en colocar las letras del alfabeto en una tabla y hacer corresponder a cada una de ellas un par de letras que indicaban la fila y columna donde se encontraban. Igualmente, otras técnicas un poco más elaboradas fueron apareciendo con el transcurso de los años, como la escítala espartana, el cifrado de César o el atbash hebreo [6].

Todos estos sistemas son parte de la criptografía clásica e ilustran dos de los principios esenciales en los que se basa: permutación y transposición [6].

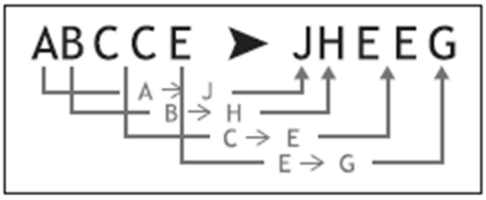


Fig. 1. Principio de permutación [7].

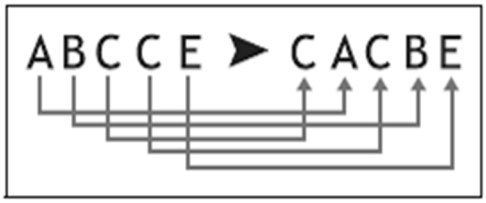


Fig. 2. Principio de transposición [7].

Los sistemas basados en estos dos principios mantenían oculto el mensaje a través del algoritmo empleado y la clave utilizada, que sólo debían ser conocidos por el emisor y el receptor del mensaje [7].

En la actualidad, la inmensa mayoría de sistemas criptográficos clásicos son extremadamente vulnerables, dado el conocimiento que poseemos de ellos y las avanzadas técnicas de descifrado que existen, pertenecientes al campo del criptoanálisis. Aun así, el conocimiento de las técnicas, algoritmos y prácticas de estos sistemas clásicos facilitaron el desarrollo de nuevos sistemas modernos, mucho más complejos y que podemos encontrar hoy día en la práctica totalidad de nuestras comunicaciones.

3. TIPOS DE SISTEMAS DE CIFRADO

Existen dos tipos fundamentales de criptosistemas o sistemas de cifrado:

- Criptosistemas simétricos o de clave privada. Son aquellos que usan una única clave tanto en el proceso de cifrado como en el de descifrado. Presentan el inconveniente de que tanto emisor como receptor deben conocer de antemano la clave que será utilizada, por lo que la seguridad de este tipo de sistemas depende de mantener dicha clave en secreto [7].

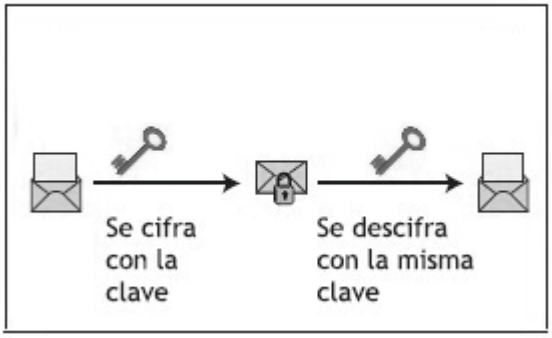


Fig. 3. Sistema de clave simétrica [7].

- Criptosistemas asimétricos o de clave pública. Son aquellos que emplean una clave para cifrar mensajes y una clave adicional para descifrarlos. En este tipo de sistemas tanto emisor como receptor crean un par de claves inversas: una privada y otra pública. Lo que el emisor cifra con una clave, el receptor lo descifra con la clave inversa. La seguridad de este tipo de sistemas depende de la dificultad de averiguar la clave privada a partir de la pública [7].

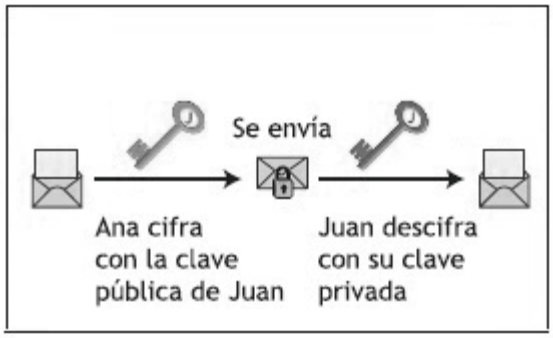


Fig. 4. Sistema de clave asimétrica [7].

Normalmente, se emplea una combinación de ambos criptosistemas, ya que los criptosistemas asimétricos son computacionalmente mucho más cos-

tosos que los primeros [4].

Los criptosistemas híbridos tratan de aunar las ventajas de ambos criptosistemas, solucionando los problemas de inseguridad y lentitud dados tanto en los criptosistemas simétricos como asimétricos respectivamente. Se trata de obtener un criptosistema rápido y eficiente que permita el intercambio de contraseñas en canales de comunicación inseguros [7].

4. ALGORITMOS DE CIFRADO

Según el principio de Kerckhoffs, la fortaleza de un sistema o algoritmo de cifrado debe recaer en la clave y no en el algoritmo. La mayoría de algoritmos criptográficos son públicos, por lo que su fortaleza debe depender de su complejidad interna y de la longitud de la clave empleada [1].

En la actualidad, disponemos de una gran cantidad de algoritmos de cifrado tanto de clave simétrica como asimétrica. Los más conocidos son:

- DES *(Data Encryption Standard)*. Es un algoritmo de cifrado simétrico que usa una clave de 56 bits (2^{56} claves posibles). Se encuentra en desuso debido a que su clave es demasiado corta y puede ser fácilmente comprometida [8].
- 3DES *(Triple Data Encryption Standard)*. Es un algoritmo de cifrado simétrico creado en respuesta a los problemas de su homónimo DES y que consiste en aplicar tres veces dicho algoritmo. Es mucho más seguro y usa una clave de 168 bits [8].
- AES *(Advanced Encryption Standard)*. Es un algoritmo de cifrado simétrico que puede usar claves de 128, 192 y 256 bits. Es el algoritmo de cifrado más utilizado actualmente [8].
- RSA *(Rivest-Shamir-Adleman)*. Es un algoritmo de cifrado asimétrico que puede usar claves entre 128 y 4096 bits [8].
- DSA *(Digital Signature Algorithm)*. Es un algoritmo asimétrico diseñado para firmas digitales. Ofrece el mismo nivel de seguridad que RSA y puede usar claves entre 1024 y 3072 bits [8].

Con el paso del tiempo, la mayoría de algoritmos de cifrado se vuelven vulnerables debido al aumento de la capacidad de cómputo de los ordenadores y de la aparición de nuevas técnicas de criptoanálisis.

La aparición de nuevos algoritmos de cifrado solucionan temporalmente los problemas de seguridad y permiten que las comunicaciones no se vean comprometidas.

5. APLICACIONES DE LA CRIPTOGRAFÍA

La criptografía es una ciencia con una gran cantidad de aplicaciones en el mundo real. Entre las más importantes encontramos:

- Seguridad en las comunicaciones. Las distintas técnicas y sistemas de cifrado permiten, como ya hemos comentado anteriormente, que las comunicaciones entre redes de computadores se realicen de forma privada estableciendo canales de comunicación seguros. [9]
- Identificación y autentificación de usuarios. Debido al uso de firmas digitales y otras técnicas es posible identificar a individuos determinados o validar el acceso a recursos con más garantías que con los sistemas de usuario y de clave tradicionales. [9]
- Certificados. Son la forma más extendida y a gran escala de identificación de organismos y empresas. Las capacidades de la criptografía permiten que organismos validadores y fiables expidan certificados que dan veracidad sobre los contenidos o elementos que se muestran a través de la red. [9]
- Comercio electrónico y pagos online. Empleando canales de comunicación seguros y mediante los sistemas de autentificación de usuarios, se posibilita este tipo de operaciones. La privacidad ofrecida por estos sistemas reduce los riesgos tanto de fraude como de robo [9].

6. CONCLUSIONES

La criptografía es una ciencia presente en una gran cantidad de aspectos de nuestro día a día, aunque es bastante desconocida. Su uso ha posibilitado que Internet se haya convertido en una de las herramientas más útiles y extendidas en la sociedad humana. La capacidad de ocultar la información y protegerla es absolutamente necesaria en un mundo cada vez más hiperconectado y globalizado, donde la información se ha convertido en un recurso increíblemente valioso y que, por tanto, es necesario salvaguardar.

REFERENCIAS

[1] Costas Santos, J., Seguridad y Alta Disponibilidad.
Madrid: RA-MA Editorial, 2011.

[2] https://es.wikipedia.org/wiki/Seguridad_inform%C3%A1tica

[3] https://es.wikipedia.org/wiki/Criptograf%C3%ADa

[4] http://www.dma.fi.upm.es/recursos/aplicaciones/matematica discreta/web/aritmetica_modular/criptografia.html

[5] Ramió Aguirre, J. Seguridad Informática y Criptografía.
Madrid: Publicaciones EUI, 2006.

[6] Fernández Fernández, S. La Criptología Clásica.
Madrid: Revista SIGMA de Matemáticas, Nº. 24, 2004.

[7] Escrivá Gascó, G. Seguridad Informática.
Madrid: Macmillan Iberia, 2012.

[8] https://elbinario.net/2016/04/05/algoritmos-de-cifrado-i/

[9] https://www.uv.es/~sto/cursos/seguridad.java/html/

Daniel Ramírez Bermúdez es Técnico Superior en Administración de Sistemas Informáticos en Red y actualmente cursa el Grado en Ingeniería Informática en Sistemas de Información en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

El color del Desarrollo Regional de la Costa Ecuatoriana. Estudio Multianalitico por DRX y SEM-EDS

Michelle Mármol, Martha Romero

Resumen—Las diferentes culturas que habitaron el territorio de la costa ecuatoriana utilizaron los pigmentos como elementos decorativos en sus objetos cerámicos. Cada cultura desarrolló procesos relacionados a la forma de obtener y aplicar estos elementos, generando técnicas específicas. El presente trabajo plantea una investigación multianalítica, utilizando la microscopia electrónica de barrido con sonda dispersiva (SEM-EDS) y la difracción de rayos X (DRX) para determinar, mediante la composición química y mineralógica de los pigmentos utilizados y sus posibles fuentes geológicas. Los pigmentos verdes fueron identificados como glauconita. Los rojos y ocres corresponden al uso de hematite y goethita. Los blancos presentan pigmentos como la calcita y la caolinita. De esta manera se pudo determinar la paleta cromática utilizada.

Palabras Claves— Pigmentos, SEM-EDS, DRX, Costa ecuatoriana, Cerámica

1. Introducción

Las culturas de la costa ecuatoriana han tenido una larga historia en relación al color plasmado en cerámicas y textiles. Desde los engobes precocción de Valdivia hasta la rica cromática postcocción Jama Coaque, hubo milenios de exploración de los materiales y de las técnicas de fabricación y aplicación. A esto se sumó una estrecha relación con el territorio, para saber de dónde extraer los pigmentos, y un notable desarrollo de técnicas para colorear las cerámicas. La historia del arte y la arqueología han contribuido al estudio iconográfico, estético y material de las cerámicas, sin embargo, no contamos con estudios sobre el origen de los pigmentos o sus técnicas de elaboración y aplicación.

Al igual que los murales mochicas, cuya paleta cromática mural era de 5 colores: rojo, amarillo, negro, azul-gris y blanco, la cerámica de las culturas de la costa ecuatoriana empleó los mismos colores. Se trataron de pinturas añadidas después de la cocción a las cerámicas, ya que, de haberlo aplicado antes de cocerlas, habrían variado de color, tomando colores rojizos a marrones. Es interesante notar que mientras para los recipientes cerámicos, emplearon engobes o tratamientos más comunes de las superficies, esta pintura postcocción la emplearon únicamente en cuencos ceremoniales y muy extensamente en figuras profusamente decoradas.
Al igual que la escultura monumental mexica o los murales peruano [1], [2], la elección de los materiales que componen los colores en el período de Desarrollo Regional no fue al azar, sino el resultado de la imbricación entre disponibilidad de materiales, el conocimiento de las técnicas necesarias para trabajarlos y las connotaciones que tuvieron los colores y materiales con los que se fabricaron. La imaginería precolombina en cerámica, de manera similar a otras partes del mundo, estaba destinada a transmitir mensajes relacionados con el mantenimiento del orden social y la cosmovisión del mundo.
Mientras que Bahía y Jama Coaque hicieron un uso extensivo de todos los colores mencionados, en La Tolita-Tumaco la paleta es más reducida. La ubicación de cada color en las figuras seguía patrones culturales. En Jama Coaque no emplearon extensamente el rojo, pero emplearon el color verde en muchas piezas y detalles. En Bahía el rojo es muy común, en cambio el verde se aplicó de forma muy puntual en piezas sobresalientes y el azul-grisáceo sirvió para decorar collares y diseños geométricos en las faldas de las figuras femeninas (Figura 1).

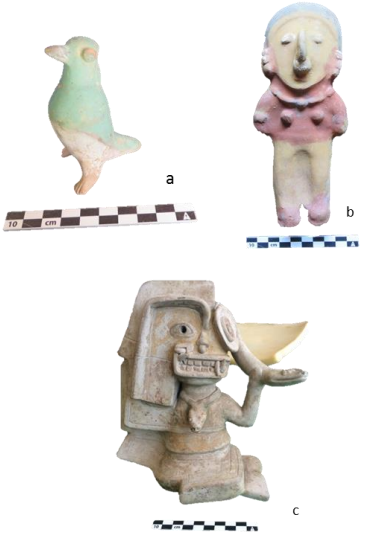


Fig. 1. Figuras estudiadas. a) Ornitomorfa/Cultura Jama-Coaque, b) Figurina Antropomorfa/Cultura Bahía y c) Figurina Antropomorfa /Cultura Tolita. Fuente: Michelle Marmol.

Michelle Mármol. Máster Diagnóstico del Estado de Conservación del Patrimonio Histórico, Facultad de Ciencias, Universidad Pablo de Olavide/ mmarvil@alu.upo.es
Martha Romero. Unidad de Laboratorio y Análisis, Instituto Nacional de Patrimonio Cultural, martha.romero@patrimoniocultural.gob.ec

2. METODOLOGÍA

2.1. Muestras

Se incluyeron en la investigación 15 piezas cerámicas completas, 5 piezas de la cultura La Tolita, 8 de Jama Coaque y 2 de Bahía. De las cuales, 11 piezas provienen del Museo de Arte Precolombino Casa del Alabado y 4 de la reserva arqueológica del Ministerio de Cultura y Patrimonio. Las diferentes piezas analizadas y sus correspondien tes códigos se observan en la tabla 1.

TABLA 1
PIEZAS CODIFICADAS

Código de la pieza	Cultura	Localización	Muestras analizadas
TT-1	Tumaco-La Tolita	Esmeraldas	Verde
JC-2	Jama Coaque	Manabi	Rojo
JC3	Jama Coaque	Manabi	Verde
JC3	Jama Coaque	Manabi	Blanco
JC-4	Jama Coaque	Manabi	Verde
JC-4	Jama Coaque	Manabi	Amarillo
JC-4	Jama Coaque	Manabi	Rojo
JC-4	Jama Coaque	Manabi	Negro
B-5	Bahía	Manabi	Blanco
B-5	Bahía	Manabi	Negro
B-5	Bahía	Manabi	Amarillo
TT-6	Tolita - Tumaco	Esmeraldas	Verde
JC-7	Jama Coaque	Manabi	Verde
JC-7	Jama Coaque	Manabi	Amarillo
TT-9	Tolita - Tumaco	Esmeraldas	Rojo
TT-10	Tolita - Tumaco	Esmeraldas	Amarillo
TT-12	Tumaco-La Tolita	Esmeraldas	Rojo
JC-20	Jama Coaque	Manabi	Verde
JC-20	Jama Coaque	Manabi	Blanco
JC-21	Jama Coaque	Manabi	Blanco
JC-22	Jama Coaque	Manabi	Blanco
*TT-2	Tumaco-La Tolita	Esmeraldas	Rojo
*TT-2	Tumaco-La Tolita	Esmeraldas	Verde
*B-4	Bahía	Manabi	Verde
*B-4	Bahía	Manabi	Amarillo
*JC-6	Jama Coaque	Manabi	verde
*JC-8	Jama Coaque	Manabi	verde

2.2. Aparatos y Métodos

El uso combinado, de la difracción de rayos X y la microscopía electrónica de barrido, permite entender aspectos relacionados con la composición química de los pigmentos, los procesos tecnológicos involucrados y la procedencia geológica de las posibles fuentes de materias usados para producir las tonalidades cromáticas.

El análisis puntual por espectrometría de rayos X acoplada a un microscopio electrónico de barrido (SEM-EDS) JEOL IT300 - Oxford Instruments, se realiza para determinar el número de estratos, morfología y composición química de los pigmentos y obtener así una aproximación al conocimiento de las decisiones tecnológicas de producción involucradas.

El análisis mineralógico por difracción de rayos X (DRX) BRUKER Advance, admite identificar las fases cristalinas que conformar los materiales coloreados y arrojar luz sobre su origen por asociación geológica.

3. RESULTADOS

Pigmentos Verdes

Las 10 muestras de pigmentos verdes analizadas, de las 3 culturas en estudio, muestran una composición homogénea, con presencia de silicio (Si), aluminio (Al), potasio (K) y hierro (Fe) como componentes mayoritarios, por lo que, se deduce que se trata de un aluminosilicato de hierro y potasio, identificado por DRX como glauconita $(K,Na)(Fe^{3+}, Al, Mg)_2(Si, Al)_4O_{10}(OH)_2$, denominada también tierra verde (Figura 2).

La glauconita, es un filosilicato, de color verde, rico en hierro, generalmente se localiza en sedimentos de ambiente marino somero (plataforma y parte superior del talud continental, 50 – 500m) [3]. Pertenece al grupo de las micas, su formación responde, a procesos progresivos de reducción catalizados por microorganismos en el fondo marino. La glauconita, se puede encontrar en la naturaleza asociada a otras hidromicas, montmorillonita y cuarzo. Se ha identificado presencia de este mineral en las provincias de Esmeraldas, Manabí y Guayas, formando parte de agregados volcánicos, alternándose con lutitas, areniscas y tobas, donde se aprecian minerales como cuarzo, glauconita, feldespatos, calcitas y sericita [4].

Se ha registrado el uso de este mineral para dar la coloración verde en pintura rupestre en la Patagonia [5] y en Europa desde el Paleolítico [6].

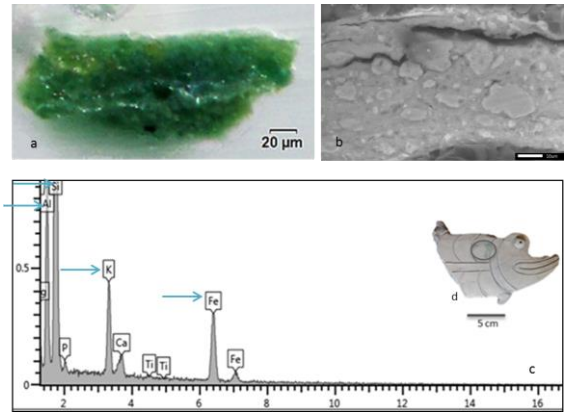


Fig. 2. Corte transversal: a) Microscopia óptica (100X), b) Microscopia electrónica de barrido (1300X), c) Espectro EDS glauconita y d) Figura Tolita (TT-1). Fuente: Martha Romero, Michelle Mármol.

Pigmentos Rojos

El estudio microquímico del material responsable del color rojo de 6 piezas analizadas, de las tres culturas en estudio, muestran al hierro (30- 40%) y silicio (Si) como los componentes mayoritarios y al manganeso, potasio, calcio y aluminio como minoritarios. Del análisis por DRX, se conoce que se trata de hematita (Fe_2O_3) asociado con plagioclasas [(Na,Ca)(Si,Al)$_3$O] y cuarzo (SiO_2) en cuatro de las cinco muestras (Figura 3). En la muestra de pigmento rojo (JC-4), no se registró la presencia de hematite por DRX, probablemente debido a que se trata de una estructura amorfa.

En una de las muestras analizadas (*TT-2), se evidencia el uso intencional de otros materiales, que posiblemente correspondan a la goethita (FeO-OH) y caolinita (K, Na)(Fe^{3+}, Al, Mg)$_2$(Si, Al)$_4O_{10}(OH)_2$) por DRX, que podrían conrresponder a los resultados que registran Boschin [7] y Podesta [5] en la Patagonia. Como en la costa ecuatoriana no se han localizado fuentes de caolinita [8], se deduce que este mineral no puede estar asociado a la hematita desde su formación. Su presencia en esta muestra debe ser un agregado con el objeto de modificar el color.

Respecto a la disponibilidad de hematita en las provincias donde se desarrollaron las tres culturas en estudio, se han identificado fuentes naturales, tanto de hematita terrosa como laminar (especularita) en afloramientos dispersos y betas en las rocas ígneas diabásicas en la cordillera costanera Chongón – Colonche [9].

Existen varios estudios de pigmentos de color rojo en pintura rupestre [10], y en cerámica arqueológica [11], [12], [13], [7]; en todos los casos, se ha identificado a la hematita como el mineral responsable de este color.

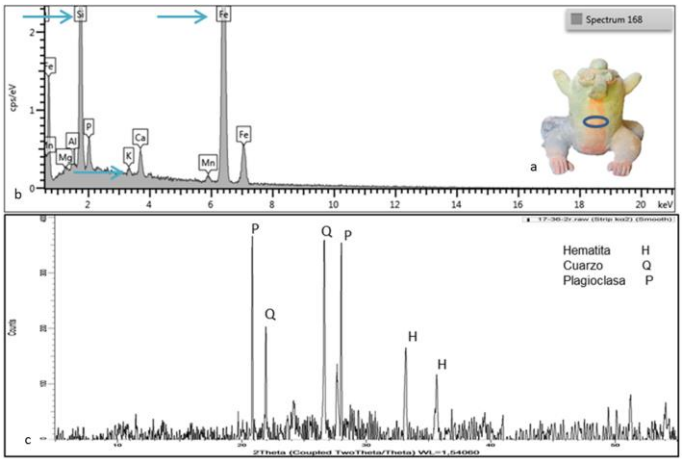


Fig. 3. a) Figura Jama Coaque (JC 2), b) Espectro EDS y c) Difractograma correspondientes a hematita. Fuente: Martha Romero, Michelle Mármol.

Pigmentos Amarillo

Así como los pigmentos de tierras rojas generalmente están coloreados por hematita, la mayoría de las tierras amarillas a cafés, están coloreadas por goethita, que es un oxi-hidróxido de hierro (FeO-OH) [14], las 5 muestras analizadas no son la excepción. El material pigmentario identificado tiene una composición homogénea, con presencia de hierro (50-61%) como componente mayoritario, acompañado además de silicio (Si) y aluminio (Al), que fue identificado por DRX como goethita (FeOH-OH) y otros minerales accesorios como cuarzo, plagioclasas y arcillas (Figura 4).

Adicionalmente, se analizó por DRX, una muestra de pigmento amarillo asociada a un enterramiento. Tiene una composición similar a las muestras de pigmentos estudiados en esta investigación, goethita como fase cristalina dominante, acompañada de plagioclasas [(Na,Ca)(Si,Al)3O], cuarzo (SiO2) y arcillas, como minerales accesorios.

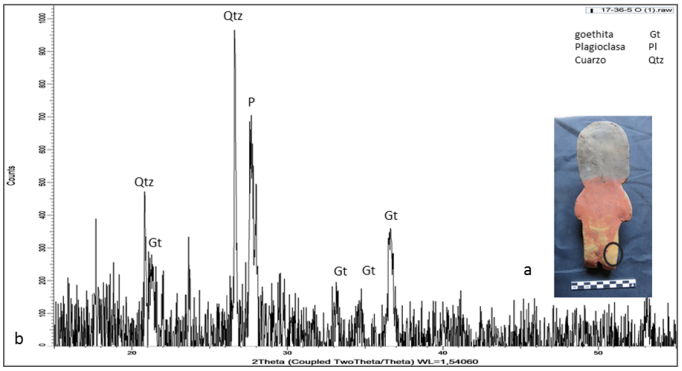


Fig. 4. a) Bahía (B5), b) Difractograma correspondientes a la goethita. Fuente: Martha Romero, Michelle Mármol.

Pigmentos Blancos

Los pigmentos blancos, por otra parte, tienen mayor variación en su composición elemental. Las muestras B-5 y JC-21, destacan por la presencia dominante de calcio (Ca) y la baja concentración de silicio (Si) y aluminio (Al), identificado como carbonato de calcio ($CaCO_3$) (Figura 5a) por DRX. En cambio, las muestras JC-3, JC-20 y JC-22, se advierte una alta concentración de silicio (Si) y aluminio (Al), característica de los aluminosilicatos. El análisis DRX indica que posiblemente se trate de caolinita [(K,Na)(Fe3+, Al, Mg)$_2$(Si, Al)$_4O_{10}(OH)_2$] y otros minerales accesorios como gibbsita $Al(OH)_3$, plagioclasa y cuarzo (Figura 5b).

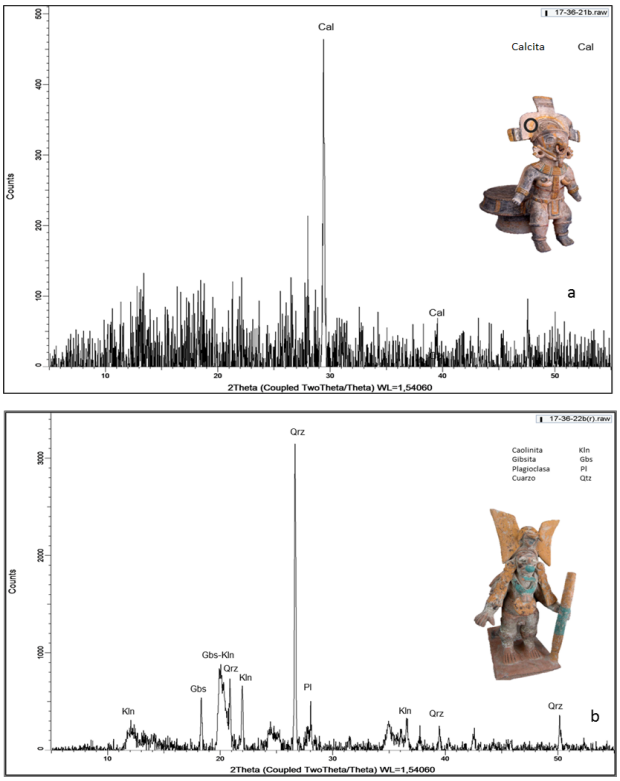


Fig. 5. Difractogramas: a) Calcita y b) Caolinita. Fuente: Martha Romero, Michelle Mármol.

La caolinita ha podido ser identificada como componentes de las pinturas blancas utilizadas tanto en pintura rupestre, como en cerámica [7], [15]. Como ya habíamos dicho con anterioridad, no se tiene depósitos de caolinita en las provincias de estudio, este mineral se produce en abundancia en las provincias de Cañar, Azuay y Loja, lo que evidencia el contacto con los territorios de centro sur de país, con la finalidad de obtener esta materia prima.

4. Conclusiones

El presente estudio constituye una primera aproximación al uso de técnicas analíticas de manera combinada, con el fin de aportar información sobre la composición química, aspectos tecnológicos y posibles fuentes de aprovisionamiento de pigmentos prehispánicos.

En cuanto a la tecnología de color en los materiales cerámicos, los resultados evidencias el uso de diferentes materias primas para conseguir los colores deseados. Los colores rojos a partir del uso de las tierras rojas, cuyo material responsable del color es hematita. En relación al color amarillo, los resultados lo asocian al uso de otra tierra coloreada, donde es goethita quien propicia el color. Para el color verde, en cambio, está el uso de un filosilicato de origen sedimentario marino, como es la glauconita. El color blanco, en cambio presenta una variabilidad de materias primas, por una parte, se lo consigue a partir de carbonato de calcio de origen geológico; y a partir del uso de una arcilla de color blanco, como es la caolinita.

Acerca del origen de los pigmentos, pensamos que todas las tierras coloreadas (hematita, goethita y glauconita) y el carbonato de calcio, pudieron tener un abastecimiento local; mientras que la caolinita, posiblemente fue producto de prácticas de intercambio con el centro-sur de la sierra ecuatoriana.

Esta investigación contribuye con datos significativos sobre la cromática de las cerámicas elaboradas por los desarrollos regionales de la costa ecuatoriana, el cual ha sido fundamentalmente la caracterización de los materiales pigmentarios, las decisiones tecnológicas involucradas y las posibles fuentes de aprovisionamiento. Estos resultados evidencian la necesidad de continuar con estos estudios, no solamente orientados a la fracción inorgánica, como es este caso, sino también a la fracción orgánica.

Referencias

[1] L.Lopez, (ed.), "Nuestra sangre, nuestro color: la escultura polícroma de Tenochtitlan. Cuidad de México: Instituo Nacional de Historia y Antropología, 2017.

[2] V.Wright, "Pigmentos y tecnología artística mochicas: una nueva aproximación en la comprensión de la organización social". Bulletin de l'Institut Francais d´Études Andines, vol 39 (2), pp. 299-230, 2010.

[3] G. Nichols, *Sedimentology and Stratigraphy,* Wiley-Blackwell, pp: 12-18, 2009.

[4] F. Morante, "Las zeolitas de la costa del Ecuador (Guayaquil): Geología, caracterización y aplicaciones", Tesis inédita, Universidad Politécnica de Madrir, 2004.

[5] M.M. Podestá, C. Bellelli, R. Labarca, "Arte rupestre en pasos cordilleranos del bosque andino patagónico (El Manso, Región de Los Lagos y provincia de Río Negro, Chile-Argentina)". Magallania, N° 36, vol. 2, pp. 143-153, 2008.

[6] B. Velde, I.C. Druc, "Archaeological Ceramic Materials. Origin and Utilization", París: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 209, 1999.

[7] M.T. Boschín, "Análisis de fracciones inorgánica y orgánica de pinturas rupestres y pastas de sitios arqueológicos de la Patagonia Setentrional argentina", Zephyrus, vol. 55, pp.183-198, 2002.

[8] R. Uribe, "Investigaciones de Materias Primas Minerales No Metálicas en el Ecuador". Revista Politécnica, Vol. 36, No. 3, pp. 34-44, 2015.

[9] United Nations Development Programme, "Survey of metallic and nonmetallic minerals", Technical Report No. 6, Iron-Ore and Barite (Operation N°7-Guayas-Manabi). Ministerio de Industrias y Comercio, Servicio Nacional de Geología: Quito, New York, 1969.

[10] G.A. Masaferro, "Indicadores de tecnología y etnodinamia: el análisis de pigmentos en el paraje arqueológico Comallo Arriba, provincia de Río Negro, Argentina". Boletín del Museo Chilero del arte precolobino, pp. 117-127, 2012

[11] V.L. Acevedo, "Estudio de pigmentos en alfarería estilo negro", Boletín Chileno de Arte Precolombino, pp. 39-51, 2012.

[12] F. Bugliani, C. Di Lello, "Empleo de espectroscopia Raman, difracción de rayos X y microscopia electrónica para el análisis de pigmentos en cerámicas vaquerías", Boletín del Museo Chileno de Arte Precolombino, vol. 17, N°2, pp. 65-74, 2012

[13] C.C. Backes, "The color of influence: a provenance study of hematite-based paints on early Olmec carved pottery." Latin American Antiquity, Volúmen 23, pp. 70-92, 2012.

[14] D.Hradila, T. Grygara, "Clay and iron oxide pigments in the history of painting". Applied Clay Science, N° 22, pp. 223-226, 2003, doi:10.1016/S0169-1317(03)00076-0.

[15] R. Goodall, "A spectroscopic investigation of pigment and ceramic samples from Copán, Honduras", Archaeometry, pp. 95-109, 2009.

Michelle Mármol recibió el título de Química Pura por la Universidad Central del Ecuador en 2016. Desde 2016 hasta la actualidad se desarrolla como investigadora en la Unidad de Laboratorio y Análisis del Instituto Nacional de Patrimonio Cultural, donde trabaja en el área de microscopia óptica y electrónica, fluorescencia de rayos x y difracción de rayos x, orientados a la caracterización de la materialidad de los bienes culturales, concretamente de los componentes inorgánicos. Ha trabajado policromia en pintura caballete, pintura mural y esculturas, además de la elaboración de curvas de calibración para análisis elemental por fluorescencia de rayos x.

Martha Romero Bastidas Química y Doctora en Química (Universidad Central del Ecuador). Especialista en análisis de materiales orientado al estudio y caracterización del patrimonio cultural y artístico ecuatoriano, donde aplica instrumentación analítica de laboratorio y portátil como: Microscopía óptica y electrónica, fluorescencia de rayos-X, difracción de rayos-X y micro difracción de Rayos-X, entre otras. Se ha dedicado al estudio de materiales y sus procesos de deterioro que sufre el patrimonio mueble e inmueble. Es investigadora y coordinadora de la unidad de Laboratorio y Análisis del Instituto Nacional de Patrimonio Cultural del Ecuador, INPC. Continuamente mejora y desarrolla nuevas metodologías científicas aplicadas al análisis y conservación del patrimonio.