

MOLEQLA ^{nº} 4 1

Revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide

Mujeres en Ciencia
y
Ciencia por mujeres

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 todas las secciones de la revista

MoleQla Ambiental	- Ana Martín Calvo
MoleQla Energía	- Juan Antonio Anta Montalvo
MoleQla Nutricional	- Gladys Margot Cahuana Macedo
MoleQla Patrimonio	- María Pilar Ortiz Calderón
MoleQla Farmacéutica	- Matilde Revuelta González
MoleQla Nanotecnológica	- Ana Paula Zaderenko
MoleQla Biotecnológica	- Cristina Guillén Mendoza
MoleQla Celular	- Guillermo López Lluch
MoleQla Relatos	- Jose Manuel Vicent
MoleQla Informática	- Norberto Díaz Díaz
MoleQla Tierra	- Manuel Díaz Azpiroz
MoleQla Médica	- Juan Antonio del Castillo Polo
MoleQla Procesos	- Sara González García
MoleQla Deporte	- Alberto Grao Cruces
MoleQla Forense	- Antonio Aguilar García
MoleQla Instituto	- Almudena García Sánchez
MoleQla Educativa	- Macarena Esteban Ibáñez

Responsable de Maquetación

Francisco Araque Frías

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

Editores

Juan José Gutiérrez Sevillano
Ana Martín Calvo



ISSN 2173-0903

Editado el 8 de marzo de 2021

Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

Aquí está el nuevo número de MoleQla!!!

Como ya sabéis Sofia nos ha cedido el relevo como editores jefes de la revista. Una labor que supone un reto para nosotros, pero que aceptamos con muchas ganas e ilusión. En primer lugar, nos gustaría dar las gracias a todos los miembros del equipo editorial por vuestra ayuda y dedicación, y por supuesto a los autores, sin vosotros esto no sería posible. En los próximos números iremos viendo cambios en MoleQla con el objetivo de dinamizar y hacer la revista mas atractiva para autores y lectores.

Para empezar, y coincidiendo con el día internacional de la mujer, sacamos este nuevo número de MoleQla, un número de primavera donde queremos resaltar la labor de la mujer en ciencia. Es por esto que para la ocasión hemos seleccionado artículos escritos por y/o sobre mujeres. Entre las páginas de este número podréis encontrar detalles sobre el legado científico de mujeres como Jennifer Doudna o Maria Goepfert Mayer, trabajos específicos sobre inmunidad, el SARS-CoV-2, el dengue o la fibrosis quística, o temas tan dispares pero a la vez tan comunes como las pastillas anticonceptivas, el ibuprofeno, la desalinización del agua de mar o el deterioro de las cuevas.

Sirva este número como nuestra pequeña contribución para dar visibilidad a la aportación femenina en la ciencia y a lograr un mundo más igualitario.

Esperamos que os guste.



Ana Martín Calvo

ÍNDICE

1. Mujeres en ciencia

- 1.1. Maria Goeppert Mayer: a journey through her scientific legacy
- 1.2. Jennifer Doudna: CRISPR-Cas9

2. Ciencia por mujeres

- 2.1. Análisis de las respuestas a la infección por SARS-CoV-2 en personas con distintos factores hematológicos, bioquímicos y genéticos
- 2.2. Autoinmunidad según el sexo: ¿Somos tan distintos?
- 2.3. ¿Para qué sirven las pastillas anticonceptivas?
- 2.4. Dengue virus: preparados, listos, ¿ya?
- 2.5. Papel de la microbiota intestinal en la inmunidad
- 2.6. La fibrosis quística: etiología, cuadro clínico y tratamiento
- 2.7. Ibuprofeno vs indometacina en el tratamiento del ductus arterioso persistente
- 2.8. Desalinización de agua de mar
- 2.9. Técnicas para el estudio del biodeterioro en cuevas

Maria Goeppert Mayer: a journey through her scientific legacy

Leyla M. Sánchez Palancar*, Beatriz Ren Barroso*,
Ana I. Sánchez-Alfarache Giner*, Ceres Romero Macías*

Abstract— One of the most remarkable female scientists of the 20th century was the German physicist and mathematician Maria Goeppert Mayer, who is known for her numerous contributions to the field of physics. This article highlights some of the most important discoveries of Maria Goeppert Mayer, such as the development of the nuclear shell model, which earned her a Nobel Prize in 1963, her studies of double photon emission and the possibility of chemical separation of isotopes as a quantum effect. Acknowledging Goeppert Mayer's contributions is crucial to the understanding of numerous current scientific advances. Moreover, she has been an inspiration for several researchers and a role model for later generations of young female scientists.

Keywords— Nuclear shell model, nucleons, Nobel Prize, double photon emission, isotopes, equilibrium constants.

* These authors contributed equally to this work.

1. INTRODUCTION

Maria Goeppert Mayer was born on June 28, 1906, in Kattowitz, which was a part of Germany at the time.

She grew up in an atmosphere of fascination with science [1]. Her father always encouraged her to grow up to be more than a housewife and to get an education, even though it was difficult for women at the time [2].

She entered the University of Göttingen in 1924, where she intended to study mathematics at first. However, after attending a quantum mechanics seminar taught by Max Born, a prominent figure in physics, she switched her focus to physics [2].

Maria Goeppert Mayer was an accomplished physicist from the start until the very end of her career and she made numerous contributions to the field of physics. She was a pioneer in investigating the phenomenon of double quantum emission and, a few years later, double beta decay [3].

For most of her career, Goeppert Mayer worked without any kind of pay or status, she was 58 before she was able to become a full professor in physics. Nonetheless, she persevered in her research and made major contributions to the growing understanding of nuclear physics, making important discoveries about nuclear structure. She is one of only four women to have won the Nobel Prize in physics (she was the second one, after Marie Curie) for her paper published in 1949, detailing the evidence for the nuclear shell model, which accounts for many properties of atomic nuclei [2], [4].

Additionally, she became a member of the Manhattan Project team during World War II. After the war, she kept on working part-time at Argonne National Laboratory in Chicago. There was the place where she would make her most important scientific discovery [5].

Leyla M. Sánchez Palancar (imsanpal@alu.upo.es), Beatriz Ren Barroso (brenbar@alu.upo.es), Ana I. Sánchez-Alfarache (aisangin@alu.upo.es), Ceres Romero Macías (crommac@alu.upo.es). Faculty of Experimental Sciences (Degree in Biotechnology). Universidad Pablo de Olavide.

Goeppert Mayer died due to a heart failure in San Diego, California, in 1972, at age 65.

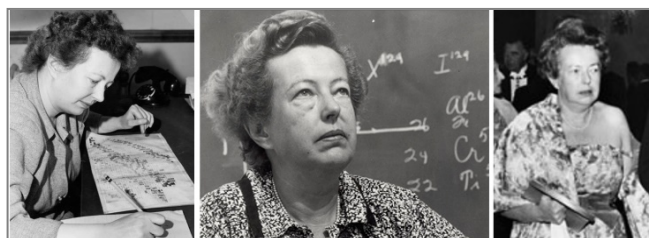


Fig. 1. Maria Goeppert Mayer (1906-1972). Images collected from: [4].

2. CONTRIBUTIONS

2.1. Nuclear Shell Model

The nuclear shell model was initially proposed by Dmitri Ivanenko in 1932, however, it was further developed by Maria Goeppert Mayer and simultaneously by physicists Eugene Paul Wigner and J. Hans D. Jensen in 1949. Together they shared the Nobel Prize in Physics in 1963 for their work [6]. Inspired by discussions with Enrico Fermi, Goeppert Mayer proposed that protons and neutrons are arranged in a series of nucleon layers inside the nucleus, like the layers of an onion, with neutrons and protons rotating around their axes and the center of the nucleus at each level (spinning and orbiting, respectively). When these two motions are in opposition, the particle's energy shifts up [4]. The discovery of the magic numbers was crucial for the development of the Nuclear Shell Model. These magic numbers are a series of numbers that provide stability. For instance, 10, 18, 36, 54, and 86 are the magic numbers for the electronic structure of atoms. However, in nuclear physics, the magic numbers are 2, 8, 20, 28, 82 and 126, (see Figure 2).

2	8	20	28	50	82	126				
He ⁴	O ¹⁶ O ¹⁷ O ¹⁸	Ca ⁴⁰ Ca ⁴² Ca ⁴³ Ca ⁴⁴ Ca ⁴⁶ Ca ⁴⁸	<i>Protons</i>			Pb ²⁰⁴ Pb ²⁰⁶ Pb ²⁰⁷ Pb ²⁰⁸				
			Ni ²⁸	Sn ¹¹²						
			Ni ³⁰	Sn ¹¹⁴						
	Ni ³¹		Sn ¹¹⁵							
	Ni ³²		Sn ¹¹⁶							
	Ni ³⁴		Sn ¹¹⁷							
	Ni ³⁶		Sn ¹¹⁸							
	Ni ³⁸		Sn ¹¹⁹							
	Ni ⁴⁰		Sn ¹²⁰							
	Ni ⁴²		Sn ¹²²							
	Ni ⁴⁴		Sn ¹²⁴							
	<i>Neutrons</i>			Kr ³⁶ Rb ³⁷ Sr ³⁸ Y ³⁹ Zr ⁴⁰ Mo ⁴²	Xe ¹³⁶ Ba ¹³⁸ La ¹³⁹ Ce ¹⁴⁰ Pr ¹⁴¹ Nd ¹⁴² Sm ¹⁴⁴			Pb ²⁰⁸ Bi ²⁰⁹		
	N ¹⁵		S ³⁶						Ca ⁴⁸	
	O ¹⁶		Cl ³⁷						Ti ³⁹	
			A ³⁸						V ⁴¹	
	K ³⁹	Cr ⁴²								
	Ca ⁴⁰	Fe ⁵⁴								

Fig. 2. Magic number nuclides. Data collected from: [7].

One remarkable fact is that there are six stable nuclei with 50 neutrons and seven with 82 neutrons, taking into consideration that usually there are only two or three isotopes with the same number of neutrons [7].

Calcium is one of the best examples to explain the effect of magic numbers. Calcium's atomic number is 20, one of the magic numbers mentioned before, and this could be the explanation why it has so many isotopes. ⁴⁰Ca and ⁴⁸Ca isotopes have 20 and 28 neutrons respectively, also magic numbers, and they both have more than the expected nuclear binding energy. The nuclear binding energy is the minimum energy needed to divide the nucleus into its parts (protons and neutrons). It can be calculated thanks to the Weizsäcker formula, which is based on the liquid drop model (the previous nuclear model). This formula, as said before, failed to predict ⁴⁰Ca and ⁴⁸Ca's binding energy, which means that the nuclear shell model could explain atoms with light nuclei, like these isotopes, better than the liquid drop model [8].

2.1.1. From the atomic model to the nuclear model

The experimental data obtained that led to the discovery of these magic numbers could hardly be explained as a coincidence. At the time, it seemed to be worthwhile to explain them and, from this curiosity, the Nuclear Shell model would arise. At this point, the fact that the electronic model, which is based on a model of shells, also relies on the existence of magic numbers that provide the stability of the atoms, made scientists think that, fundamentally, the nuclear structure could be similar to the current atomic model. This way, it would describe how nucleons are added to shells which increase with energy that orbit around a central potential. Therefore, the nuclear shell model would be based on the Pauli exclusion principle, describing the structure of the nucleus in terms of energy levels [6]. When the highest energy shell in the nucleus is full, then it would be very stable, and when it is not full, the nucleus would be less stable. This explained why certain magic numbers of protons and neutrons created very stable nuclei, while other numbers did not [5].

In analogy with the atomic structure, as explained before, nucleons would move rather independently in distinct orbits. This opened severe doubts. First of all, in the atom, the dominant attraction of the nucleus is key. Sec-

ond of all, the Coulomb repulsion between the electrons is of long range, which means that the potential acting on one electron does not depend perceptively on the exact position of the others. On the other hand, the forces in the nucleus are of short range, which means that the potential on one nucleon depends strongly on the position of the others. Consequently, it was expected that nucleons would collide with each other. However, these collisions are not critical, thanks to the Pauli principle, which does not allow collisions that would sidetrack nucleons into already filled orbits. Then, most of the expected collisions would not take place and this theory could be pursued [7].

Another difference is that the nucleus contains two kinds of subatomic particles, neutrons and protons. It was assumed that the nuclear potential was the same for protons and neutrons, supported by the fact that the magic numbers were the same for both of them. The Pauli principle requires that each nucleon have a unique set of quantum numbers to describe its motion so a certain level can be occupied by no more than $2(2+l)$ nucleons of one kind. For instance, for level 1s ($l=0$), it would have room for two neutrons and two protons (⁴He). The next level is 1p ($l=1$), which has six states, and then it would have room for eight nucleons of each kind. Since there are two kinds, 16 nucleons can be accommodated, leading to ¹⁶O. Thus, the uniquely stable numbers are easily explained for the light nuclei. However, it failed in predicting the properties of heavy nuclei, so they are explained by other nuclear models [7].

According to the nuclear shell model, the motion of each nucleon is governed by the average attractive force of all the other nucleons. The resulting orbits form shells of increasing energy, and as nucleons are added to the nucleus, they drop into the lowest-energy shells allowed by the Pauli Principle, (see Figure 3). This model accurately predicts certain properties of normal nuclei, such as their angular momentum, and describes how much energy is required to move nucleons from one orbit to another and how the quantum numbers change. When a shell is full, the nucleons have used up all of the possible sets of quantum number assignments, and such shell has a total angular momentum equal to zero [9], [10].

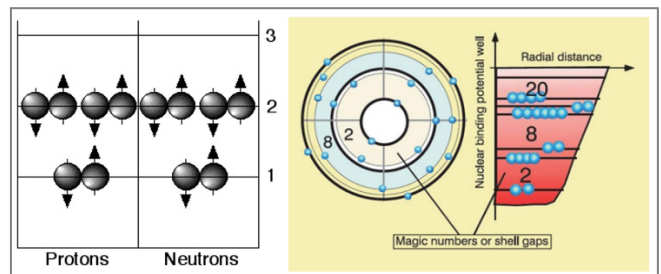


Fig. 3. Nucleons occupying different shells (left) and magic numbers (right). Data collected and modified from: [9], [11].

The fact that nuclei with a magic number of nucleons were especially stable had been noticed before, but physicists were convinced that a shell model could not be correct, because of the success of the liquid drop model (an alternative model that treats the nucleus as a homogene-

ous drop of a liquid) in explaining fission and other properties of nuclei. Furthermore, physicists assumed that the interactions between nucleons would be too strong, so they could not be treated as independent particles. Yet, Goepfert Mayer was less biased by the liquid drop model, so she considered other nuclear properties and collected evidence that pointed to supporting that the nuclear shell model was correct [2].

2.2. Calculation of Equilibrium constants

Goepfert Mayer published with Jacob Bigeleisen a paper in 1947 on equilibrium constants providing important information that demonstrated that the chemical separation of isotopes was a quantum effect [12].

The calculations of equilibrium constants for isotopic exchange reactions from spectroscopic data can be greatly simplified: they can be calculated without any knowledge of the moments of inertia of the molecules.

For gaseous substances, the Helmholtz free energy is connected to the partition function by a relation where Q is the partition function of the molecule.

$$F = -RT \ln Q / N \quad (1)$$

The partition function is defined as:

$$Q = \sum_n e^{-\epsilon_n / kT} \quad (2)$$

The Helmholtz free energy change would be:

$$\Delta F = -RT \ln K \quad (3)$$

By combining (1), (2) and (3), the equilibrium constant is obtained:

$$K = \frac{\prod Q_{products}}{\prod Q_{reactants}} \quad (4)$$

A calculation of Q allows for the calculation of equilibrium constants for chemical reactions.

It is likely that the calculation of $RT \ln K$ as the difference of the total free energies of the reactants and products leads to significant errors. A much simpler and more accurate method is obtained by calculating the differences in the free energies or the ratios of the partition functions directly.

The chemical separation of isotopes is a quantum-mechanical effect. The potential energies for molecules differing only in isotopic constituents are alike. The ratio of the partition functions of two isotopic molecules is, therefore, considered to reduce to the inverse ratio of the symmetry numbers multiplied by the mass ratio of the different isotopes raised to the 3/2 power:

$$\frac{Q}{Q'} = \frac{s'}{s} \left(\frac{m}{m'} \right)^{\frac{3}{2}} \quad (5)$$

We have to consider the ratio of the quantum mechanical to classical correction to the partition function for each of the molecules. The fundamental approximation that was made was the failure of the interaction between rotation and vibration, as well as the anharmonicity of the vibrations. These corrections can be very small if the frequency in the ground state and the zero-point energy is correctly chosen [13].

The Bigeleisen–Mayer equation is based on the Born–Oppenheimer approximation. In this equation, isotope-independent potential energy is used, and simple harmonic vibrations are assumed in its derivation [14].

Those errors have become one of the biggest mistakes in the prediction of equilibrium isotopic fractionation. In addition, a lot of researchers still use this equation to handle Hydrogen–deuterium exchange reactions [15].

For a lot of years, this method (called the Urey model too) has been one of the most stable equations of isotope geochemistry. The advantage of using the Bigeleisen–Mayer equation is that it simplified so much the calculation. That is possible because it cancels out as many identical energy terms as possible [16].

“In all isotopic exchange reactions partial cancellation of the separative effect must occur”, said Maria in her article [13].

After these mistakes, a lot of corrections about the harmonic level to the Bigeleisen–Mayer equation have been discussed and compared. Nowadays, this first equation is not the most accurate [15].

2.3. Double photon emission

The absorption of light by atoms and molecules is a known phenomenon in Quantum Physics. The transition between a ground state and an excited state can be carried out by absorbing one, two or more photons, (see Figure 4). The theoretical expression for the absorption of two photons was published by Maria Goepfert-Mayer in 1930 and experimentally confirmed 30 years later after the invention of the laser (light amplification by stimulated emission radiation) [17].

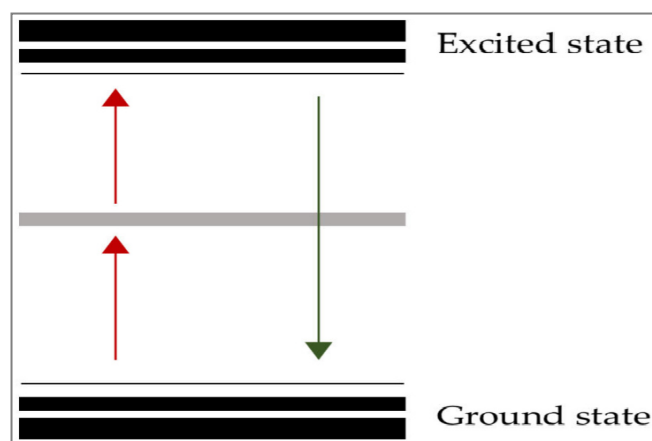


Fig. 4. Schematic of a two-photon emission process. Both photons are absorbed simultaneously. Upward arrows mean absorbed; downward arrows mean emitted photons.

Two non-resonant photons are used for excitation simultaneously that results in the occupation of an energy state at the sum of the frequencies of the absorbed photons. "When light falls upon the atom with a frequency smaller than the corresponding atomic eigenfrequency, another stimulated double emission occurs during which the atom divides its energy into one incident and one frequency-difference photon" [18]. Kramers and Heisenberg did calculate the probability of this last process according to the corresponding principle. Moreover, the reversal of this process is considered, that is, where two photons, whose sum of frequencies equals the excitation frequency of the atom, co-act to excite the atom.

Maria Goeppert's research went deeper to attempt an explanation of this phenomenon through a process whereby, simultaneously, in one elementary action, the molecule or atom takes the energy from the emitted electron up and sends out light. Then, it remains in a state of "discrete" [18] energy able to emit a spectral line of the discrete spectrum in a second, independent process. This consideration shares some similarities to the Raman effect, which can also be regarded as the coincidence of two processes in one elementary process. Because such a single process occurs the moment the collision affects the atom, it would explain all phenomena which cannot be interpreted through a recombination radiation, because it refers to the absorption of a free electron by an ion and the subsequent radiation of the excess energy as photons, causing the recombination line spectra [19]. The calculation of the double-photon emission yields a non-zero probability for such a process, the character of which was discussed in Goeppert's paper.

The two-photon emission phenomenon is currently used in skin surface microscopy, in the diagnosis of tissue lesions, or the testing of drug distribution in the skin. More techniques like photodynamic therapy and multiphoton tomography come from the application of Maria Goeppert's research [1].

3. CONCLUSIONS

The influence of Maria Goeppert Mayer on science continues to be significant. The importance of her achievements was a turning point in the field of physics and an inspiration for later generations of female scientists. The development of the nuclear shell model was a fundamental change in how physicists thought of what was going on inside the nucleus of an atom, and the idea quickly spread throughout the world. Although Maria Goeppert Mayer had to face multiple obstacles during her career due to gender inequality, she became a successful researcher in her field. The Maria Goeppert Mayer Award was created posthumously in her honor, to recognize and enhance outstanding achievements by female physicists in the early years of their careers.

Based on the legacy that Goeppert Mayer left behind, scientific progress is still going on. Although the nuclear shell model is more than 70 years old, physicists continue studying it. Goeppert Mayer's discovery could answer some of the deepest questions scientists asked about,

such as what we are made of and where we came from. She was a pioneering thinker whose ideas are still at the core of research in current science [20].

YOUTUBE VIDEO

The authors have summarized this paper in a video with the same title, that you can find clicking the following link:

<https://youtu.be/c313y7RqB0k>

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Professor Dr. Juan Antonio Anta Montalvo for encouraging the writing of this paper.

REFERENCES

- [1] Grzybowski, A., & Pietrzak, K. (2013). Maria Goeppert-Mayer (1906-1972): two-photon effect on dermatology. *Clinics in Dermatology*, 31(2), 221–225. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2012.06.002>
- [2] Maria Goeppert Mayer and the Nuclear Shell Model. (n.d.). Retrieved February 6, 2021, from <https://www.aps.org/publications/apsnews/200808/physicshistory.cfm>
- [3] CWP at physics.UCLA.edu // Maria Goeppert Mayer. (n.d.). Retrieved February 6, 2021, from http://cwp.library.ucla.edu/Phase2/Mayer_Maria_Goeppert@84444444.html
- [4] The Nobel Prize | Women who changed science | Maria Goeppert Mayer. (n.d.). Retrieved February 6, 2021, from <https://www.nobelprize.org/womenwhochangedscience/stories/maria-goeppert-mayer>
- [5] Maria Goeppert-Mayer: Contributions & Accomplishments - Physics Class | Study.com. (n.d.). Retrieved February 6, 2021, from <https://study.com/academy/lesson/maria-goeppert-mayer-contributions-accomplishments.html>
- [6] Nuclear Shell Model - Shell Model of Nucleus. (n.d.). Retrieved February 6, 2021, from <https://www.nuclear-power.net/nuclear-power/reactor-physics/atomic-nuclear-physics/atomic-properties-of-atoms/atomic-nucleus/nuclear-shell-model/>
- [7] Mayer, M. G. (1964). The shell model. *Science*, 145(3636), 999–1006. <https://doi.org/10.1126/science.145.3636.999>
- [8] Shell Model of Nucleus. (n.d.). Retrieved February 6, 2021, from <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/Nuclear/shell.html#c1>
- [9] The Shell Model. (n.d.). Retrieved February 6, 2021, from <https://www2.lbl.gov/abc/wallchart/chapters/06/1.html>
- [10] Shell nuclear model | physics | *Britannica*. (n.d.). Retrieved February 6, 2021, from <https://www.britannica.com/science/shell-nuclear-model>
- [11] Exploring Shell Structure at Limits of Nuclear Existence | *TRIUMF: Canada's particle accelerator centre*. (n.d.). Retrieved February 7, 2021, from <https://www.triumf.ca/research-highlights/experimental-result/exploring-shell-structure-limits-nuclear-existence>
- [12] FM reviews. (n.d.). Retrieved February 6, 2021, from <https://firstmonday.org/ojs/index.php/fm/article/download/10912/9591/70848#author>

- [13] Bigeleisen, J., & Mayer, M. G. (1947). Calculation of equilibrium constants for isotopic exchange reactions. *The Journal of Chemical Physics*, 15(5), 261–267. <https://doi.org/10.1063/1.1746492>
- [14] Bigeleisen, J. (1998). Second-order correction to the Bigeleisen-Mayer equation due to the nuclear field shift. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(9), 4808–4809. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.9.4808>
- [15] Liu, Q., Tossell, J. A., & Liu, Y. (2010). On the proper use of the Bigeleisen-Mayer equation and corrections to it in the calculation of isotopic fractionation equilibrium constants. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74(24), 6965–6983. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2010.09.014>
- [16] Bigeleisen, J. (1965). Chemistry of isotopes. *Science*, 147(3657), 463–471. <https://doi.org/10.1126/science.147.3657.463>
- [17] López, A. S., Maibohm, C., Silvestre, O. F., & Nieder, J. B. (2020). Polimerización de dos fotones, 23–28.
- [18] Göppert-Mayer, M. (2009). Elementary processes with two quantum transitions. *Annalen Der Physik*, 18(7–8), 466–479. <https://doi.org/10.1002/andp.200910358>
- [19] Nicholls, D. C., Dopita, M. A., Sutherland, R. S., & Kewley, L. J. (2017). Electron Kappa Distributions in Astrophysical Nebulae. In *Kappa Distributions: Theory and Applications in Plasmas* (pp. 633–655). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804638-8.00017-6>
- [20] The Last Woman to Win a Physics Nobel - *Scientific American*. (n.d.). Retrieved February 7, 2021, from <https://www.scientificamerican.com/article/the-last-woman-to-win-a-physics-nobel1/>



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



Beatriz Ren Barroso is a Biotechnology student at Universidad Pablo de Olavide. She wants to keep an open mind about the future, but her main preferences are microbial genetics, genetic engineering, and health biotechnology.



Ana Sánchez-Alfarache Giner is a student of the Biotechnology Degree at the Faculty of Experimental Sciences (Universidad Pablo de Olavide). Her academic interests are genetics and informatics, and she would like to acquire professional skills joining startups.



Ceres Romero Macías is a student of the Biotechnology Degree at Universidad Pablo de Olavide. Her interests in the field of biotechnology are bioremediation, transgenic foods, and some branches of health biotechnology, like spinal cord research.

Jennifer Doudna: CRISPR-Cas9

Rocío Mondaca Marcelo, M. Blanca Nieto Ponce, Paula Ochoa Mejía and Julio Ramírez Guerrero

Summary— Jennifer Doudna, a well-known scientist due to her excellent achievements, is a leading figure in what is referred to as the "CRISPR revolution" for her fundamental work and leadership in developing CRISPR-mediated genome editing. This was possible thanks to the previous description of the CRISPR system by Francisco Mojica. This article discusses some of the kinetics aspects related to the process in order to have a greater understanding of how this technique works. Furthermore, we have taken into account the ethical issues that arise with the creation of this innovative development.

Key words— Jennifer Doudna, Ribozyme, Hepatitis Delta, CRISPR-Cas9, Kinetic model, RGN, Kcat, Koff

1. INTRODUCTION

Jennifer Anne Doudna was born in Washington, D.C. on February 19, 1964. She is an American biochemist, Professor of Chemistry and Cellular and Molecular Biology at the University of California, Berkeley. She has been an investigator at the Howard Hughes Medical Institute (HHMI) since 1997 and since 2018 she has the position of principal investigator at the Gladstone Institutes, as well as a professor at the University of California, San Francisco [1].



Fig. 1. Jennifer Anne Doudna [2].

2. ACHIEVEMENTS PRIOR TO CRISPR

Doudna first made her name uncovering the basic structure and function of the first ribozyme, a type of catalytic ribonucleic acid (RNA) that helps catalyze chemical reactions. This work helped lay the foundation for her future work pioneering CRISPR-Cas 9 [2].

One of Doudna's first breakthroughs occurred in 1989 in Jack Szostak's¹ lab while she was still a PhD student. She focused her doctoral research on ribozymes and helped show that RNA does not only carry instructions from DNA to synthesize proteins, but also helps catalyze the process [2].

In 1991 Doudna went to Thomas Cech's² laboratory at the University of Colorado Boulder to crystallize and determine the three-dimensional structure of a ribozyme for

the first time. The project ended in 1996 at Yale University by announcing the three-dimensional structure of the catalytic core of the Tetrahymena Group I ribozyme, a particular type of catalytic RNA capable of removing introns through transesterifications and subsequently joining adjacent exons. It was a major achievement because before this, only a single RNA structure had been checked: transfer RNA (tRNA), which was much smaller and simpler than ribozyme [1], [2].

By 1998, Doudna and her team had determined the crystal structure of their first viral RNA - the hepatitis delta virus (HDV) [2].

Hepatitis D is a human disease that, in acute and chronic infections, can lead to increased chances of liver failure and liver cancer. It is caused by a small virus-like particle HDV, which only infects patients who have a hepatitis B infection. HDV has a circular RNA genome of 1.7 kb that is replicated inside the host cells into genomic and antigenomic (complementary to the original genome) RNA. The replication is carried out by a rolling circle mechanism that produces a linear RNA strand containing multiple copies of the genome. The catalytic activity of the HDV ribozyme is essential for viral replication and viral particle assembly inside the host cells. This is because it catalyzes viral RNA self-cleavage through general acid-base chemistry in which an active-site cytidine and at least one metal ion are involved [3], [4].

This initial work to resolve large RNA structures led to further structural studies at an internal ribosome entry site (IRES) and protein-RNA complexes such as the Signal Recognition Particle [1].

3. CRISPR-CAS9 TECHNIQUE

3.1. Evolution of the Study of this Technique

It is hard to establish the origin of CRISPR/Cas9 technology. Many minds had to come together in order to achieve such an innovative idea. CRISPRs were first reported almost 30 years ago and the term was pinned towards the beginning of the century. However, a good place to start is with the discovery of the genomic repeats and their subsequent characterization.

The first time these were seen was in *Haloferax medi-*

Rocío Mondaca Marcelo (rmonmar1@alu.upo.es), M. Blanca Nieto Ponce (bniepon@alu.upo.es), Paula Ochoa Mejía (pochmej@alu.upo.es), Julio Ramírez Guerrero (jramque1@alu.upo.es). Faculty of Experimental Sciences (Degree in Biotechnology). Universidad Pablo de Olavide.

terranei R-4. In 1989 the scientist Francisco Mojica started his PhD working with this strand. The thesis was focused on the salt dependence of a certain genome region. Since this region was not characterized, in 1992 one of the first sequencing experiments in the Universidad de Alicante was performed to do so. In this sequence, around 14 segments repeated in which short inverted repeats (palindromic) were found. They were spaced with regular intervals. Using Northern Blot, it was seen that this region was repeatedly transcribed, however, it did not appear to be translated into a known protein. These repeats would later be called TREPs after Tandem REPeats and they were found in other species of both archaea and bacteria.

The availability of sequencing techniques' growth was such that by the end of the century they were commonly used. However, they lacked the computer tools to be able to analyze these new genomes. César Díez-Villaseñor, from the same research team, created a high tolerance program to align the sequences. This led to the name we use today, CRISPR passing by SRSR, for Spacer-Repeat-Spacer-Repeat, and SPIDR, for SPacers Interspersed Direct Repeats.

The second part of the technique, Cas proteins, were described in 2002. They were linked to CRISPR because of the similarity in their sequences. Their biological function was not discovered until Mojica's research team checked for homologous regions of *Escherichia coli* K12-derivative strains' CRISPRs in a public nucleotide database. The results are the key to discovering their role in nature. Parts of the spacers (the DNA in between the palindromic repeats) were seen to be present in the genome of coliphages and plasmids. "The CRISPR meaning suddenly clicked into place; these arrays are crisper-like compartments for storing DNA chunks of invaders, to keep a fresh memory of past infections" [5]. Experiments checking for the immune response were successfully performed on many different bacteria, showing that this was true across the domain. With the rise of bioinformatics and the publication of similar results in other species, CRISPR began to be accepted and cherished.

It was with this serendipitous discovery of the biological mechanism described that Doudna and her team found the genome editing application of the technique. In 2012 Charpentier and Doudna published their research showing the possibilities of the system. It was published in science, as a research article titled "A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity". In this study they explained how Cas9 functions exactly, proving that cas9 proteins cut at specific sites using their RuvC and HNH domains. More importantly, they showed that crRNA (the RNA from CRISPR sequences that guides Cas9) can be minimized to 20 base pairs and even changed to a different sequence. The key

to be able to take advantage of this biological system is the ability to synthesize guide RNA that Cas will latch on to. This means that it is a completely customizable genome editing technique.

3.2. What Does it Consist Of?

Today, this mechanism is used worldwide as one of the cheapest, easiest, and quickest ways to edit DNA. In the lab, this technique starts by synthesizing a guide RNA specific to the gene that is being altered. This acts like a synthetic crRNA and attaches to cas9, like it does in nature. When the Cas9 protein enters the cell with the desired gene, it acts as molecular scissors and cuts at the specific site. Besides from cas9, a DNA sequence (that could be a separate gene or a non-mutated gene in case of a genetic disease), is also introduced in the cell. This is done in order to guide the repairing process using homology directed repair. CRISPR-Cas9 system has an immense variety of applications, from treating genetic diseases to developing plague resistant crops. The main difficulty is in the process of getting these molecules into the cell and into the organism. This, along with the potential side effects is the main reason why it is not normally performed at a clinical level yet.

3.3. Kinetics Associated to the Process

Here, we describe a kinetic model that is broadly applicable to any RNA-guided nuclease (RGN) and should enhance our understanding of on- and off-target binding when applied to CRISPR-Cas systems. CRISPR-Cas9 is one of the RGN systems that provide sequence-specific gene regulation through base-pairing interactions between a small RNA guide and target RNA or DNA [6], [7].

The kinetic models described below provide a foundation for understanding RGN targeting specificities.

Specificity is determined by the ratio of k_{cat}/K_M (K_M is the Michaelis constant and k_{cat} the catalytic constant) values for a reaction with two different substrates, in this case, a matched (S_{Match}) versus a mismatched target (S_{MM}) (Fig. 2).

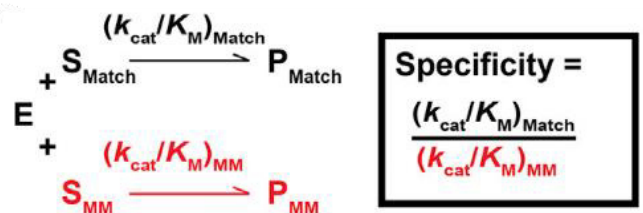


Fig. 2. Adapted image from [7].

k_{cat}/K_M represents the overall rate of the reaction and takes into account the rate constants with which the enzyme binds (k_{on}), dissociates from (k_{off}), and, for RGNs, cleaves a target (k_{cat}) (Fig. 3).

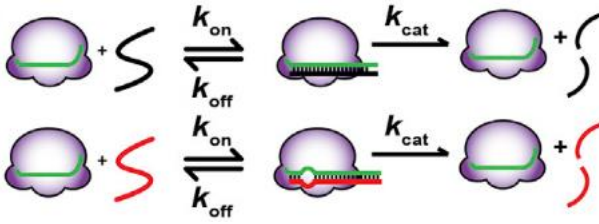


Fig. 3. Adapted image from [7].

The relative magnitudes of the rate constants that comprise k_{cat}/K_M (i.e., k_{on} , k_{off} , and k_{cat}) determine the extent of discrimination. Two kinetic regimes can be defined based on the relative magnitudes of k_{off} , k_{cat} and the Michaelis-Menten model [7].

Rapid-Equilibrium Regime: $k_{off} > k_{cat}$. Figure 4 illustrates the reaction using a free energy reaction diagram, where the valleys represent states and the peaks represent the barriers for transitions between those states. The heights of individual barriers are inversely proportional to the logarithm of the rate constant for each step, and k_{cat}/K_M corresponds to the free energy difference between the unbound state ($E + S$) and the highest reaction barrier, or transition state (\ddagger). The RGN (“E”) can bind the matched (black curve) or the mismatched (red curve) substrate. Once bound, there are peaks on either side the E-S complex: one for dissociation to E and S (k_{off}) and one for cleavage to E + P (k_{cat}). The central feature of “rapid-equilibrium” kinetics is that the peak for cleavage is higher relative to dissociation—both for the matched and the mismatched target (i.e., cleavage is the rate-limiting step). This means that the $E\cdot S_{Match}$ and $E\cdot S_{MM}$ complexes dissociate faster than they are cleaved, such that E can equilibrate its binding before cleavage occurs. As a result, there is a preference for cleaving S_{Match} over S_{MM} that matches the thermodynamic preference for binding S_{Match} over S_{MM} [7].

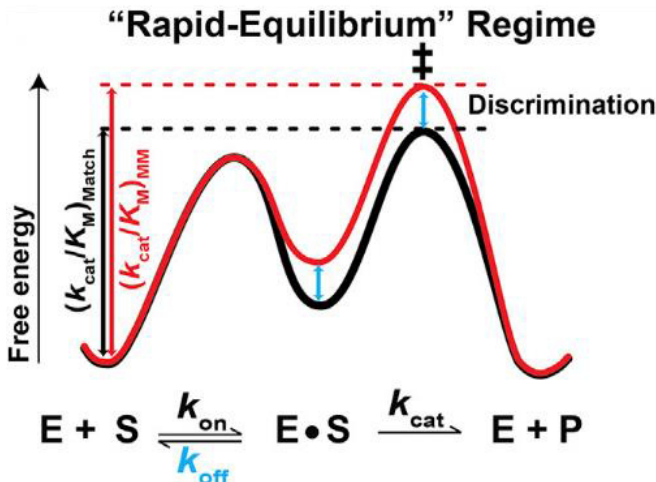


Fig. 4. Adapted image from [7].

Sticky Regime: $k_{off} < k_{cat}$. In the sticky kinetic regime (Fig. 5), the barrier for dissociation of S from the E-S complex is higher than the barrier for cleavage. Thus, once either S_{Match} or S_{MM} bind, they are “stuck” to the enzyme and are cleaved essentially every time they bind. Because neither substrate has an opportunity to dissociate and achieve equilibration before cleavage, there is no discrimination between S_{Match} or S_{MM} . These models can be expanded to take into account more complex scenarios, including binding-site accessibility (e.g., determined by chromatin state), conformational changes, and non-cleavage activities of engineered RGNs [7].

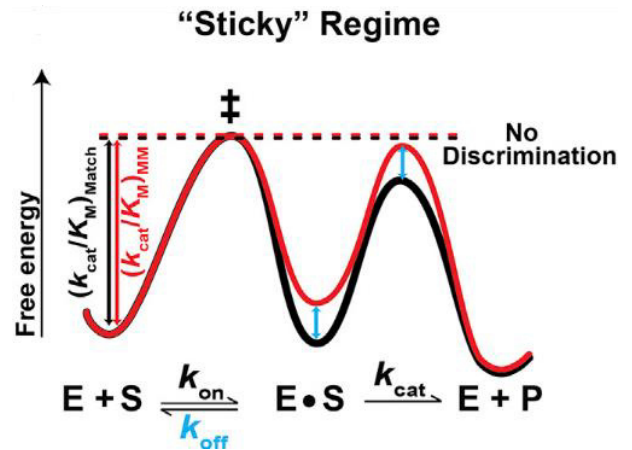


Fig. 5. Adapted image from [7].

Figure 6 illustrates the predictions of a simple kinetic model for specificity between a target and a potential off-target. In this model, there are two steps, binding and cleavage, for both a target and off-target sequence. In the simplest scenario, we consider that the target and off-targets have the same on-rate (k_{on}) and forward reaction rate (k_{cat}) constant and that there is a 100-fold difference in dissociation rate constant (k_{off}) between the target and off-target. As the absolute affinity for the target sequence is varied (e.g., by changing the GC content or length of the guide RNA), this model predicts two regimes of specificity. When targets have high binding affinities (i.e., slow dissociation rate constants), specificity between a target and potential off-target is absent or low (Fig. 6, left). However, as the dissociation rates for both the target and the off-target increase (i.e., affinities decrease), specificity increases (Fig. 6, right), eventually reaching the maximal level of 100-fold. Thus, the “excess energy” model can be rationalized by a shift from the sticky enzyme regime to the rapid equilibrium regime as the dissociation rate constant increases with an improvement in specificity as a consequence [7].

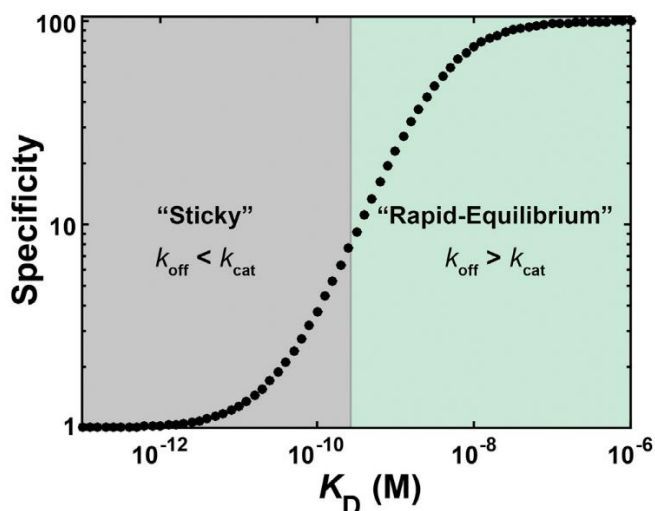


Fig. 6. Adapted image from [7].

4. AWARDS

Since her beginnings, Doudna has received many awards to reward her research work. Some of her honors include the Johnson Foundation Prize for Innovative Research (1996), the Beckman Young Investigator Award (1996), the David and Lucille Packard Foundation Fellow Award (1996), the Lucille P. Markey Scholar Award in Biomedical Science (1991), and the National Research Service Award in Biomedical Science (1986). Doudna also got the NAS prize for research initiatives in 1999. In 2000, The National Science Foundation (NSF) chose her to receive its most prestigious prize for young researchers, the Alan T. Waterman Award [8].

In 2014, she received the Lurie award in biomedical sciences. With her colleague Emmanuelle Charpentier, they received many awards like in 2014 they got the Dr. Paul Janssen award for biomedical research and the innovation in life sciences award. In 2015 they got the Princesa de Asturias award and the Gruber award in genetics. In 2016 the BBVA foundation: frontiers of knowledge award and she also got the L'Oréal-UNESCO award for women in science. In 2020 they got the Wolf award in medicine and the Nobel Prize in Chemistry for their discovery of the CRISPR-Cas9 technique.

5. ETHICAL ISSUES

This last discovery, the CRISPR-Cas9 can bring up some ethical problems associated with genome editing that need to be considered. This technology can be used not only in adult cells but also in embryos of organisms, including humans. Doudna expressed the necessity to have a global conversation to discuss all the ethical and social implications of this technique. With this technology we are able to engineer humans that have improved characteristics such as stronger bones or less susceptibility to certain diseases, or even qualities that we find desirable like an eye color, being taller, etc. We could get "designer humans" if we would like. This supposes a great ethical

problem and that is why Doudna and Emmanuel call for a global pause in any clinical application in human embryos until the ethical limits are established [9], [10].

We can consider the event below as a clear example of the ethical conflicts of this technique.

In 2018, the Chinese scientist He Jiankui claimed that he had created the first genetically edited human babies, the twins known as Lulu and Nana. For this purpose, He took sheep sperm and eggs, and he performed an in vitro fertilization. Then he edited the embryos genome using CRISPR/Cas9. He edited the CCR5 gene, which codes for proteins used by HIV to enter human cells. Therewith he was trying to create the mutation in CCR5 gene that some people had naturally developed, acquiring HIV immunity. For these actions, He was sentenced to three years in jail.

6. CONCLUSIONS

Jennifer Doudna is a well-known scientist thanks to her exceptional achievements. She is the leading figure for the so called "CRISPR revolution" that allow us to edit genomes. This accomplishment has a large number of applications such as genomic diseases treatment. With all this, we must consider the legal and bioethical aspects related to make good use of this discovery.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Juan Antonio Anta for his help in correcting this article.

REFERENCES

- [1] "Jennifer Doudna - Wikipedia." [Online]. Available: https://en.wikipedia.org/wiki/Jennifer_Doudna. [Accessed: 07-Feb-2021].
- [2] "Professor Jennifer Doudna | Biographical summary." [Online]. Available: <https://www.whatisbiotechnology.org/index.php/people/summary/Doudna>. [Accessed: 07-Feb-2021].
- [3] A. Ke, F. Ding, J. D. Batchelor, and J. A. Doudna, "Structural Roles of Monovalent Cations in the HDV Ribozyme," *Structure*, vol. 15, no. 3, pp. 281–287, 2007.
- [4] G. J. Kapral, S. Jain, J. Noeske, J. A. Doudna, D. C. Richardson, and J. S. Richardson, "New tools provide a second look at HDV ribozyme structure, dynamics and cleavage," *Nucleic Acids Res.*, vol. 42, no. 20, pp. 12833–12846, 2014.
- [5] F. J. M. Mojica and F. Rodriguez-Valera, "The discovery of CRISPR in archaea and bacteria," *FEBS J.*, pp. 3162–3169, 2016.
- [6] D. A. Specht, Y. Xu, and G. Lambert, "Massively parallel CRISPRi assays reveal concealed thermodynamic determinants of dCas12a binding," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 117, no. 21, pp. 1–9, 2020.
- [7] N. Bisaria, I. Jarmoskaite, and D. Herschlag, "Lessons from Enzyme Kinetics Reveal Specificity Principles for RNA-Guided Nucleases in RNA Interference and CRISPR-Based

Genome Editing," *Cell Syst.*, vol. 4, no. 1, pp. 21–29, 2017.

- [8] "NSF - OLPA - PR 00-19: NSF Honors Yale Biochemist Jennifer Doudna with the Alan T. Waterman Award." [Online]. Available: <https://www.nsf.gov/od/lpa/news/press/00/pr0019.htm>. [Accessed: 07-Feb-2021].
- [9] "How CRISPR lets us edit our DNA | Jennifer Doudna - YouTube." [Online]. Available: <https://www.youtube.com/watch?v=TdBAHexVYzc>. [Accessed: 07-Feb-2021].
- [10] Á. Martín Bastida, "CRISPR-Cas9 y ... ¿Bebés a la carta?," *MoleQla Rev. Ciencias la Univ. Pablo Olavide*, ISSN-e 2173-0903, N.º. 21, 2016, no. 21, p. 8, 2016.
- [11] W. B. Derry, "CRISPR: development of a technology and its applications," *FEBS J.*, pp. 2–3, 2020.
- [12] M. Jinek, K. Chylinski, I. Fonfara, M. Hauer, J. A. Doudna, and E. Charpentier, "A Programmable Dual-RNA – Guided," vol. 337, no. August, pp. 816–822, 2012.
- [13] "Timeline: CRISPR-Cas9." [Online]. Available: <https://www.whatisbiotechnology.org/index.php/timeline/science/CRISPR-Cas9>. [Accessed: 07-Feb-2021].

¹ Jack Szostak is an English molecular biologist, famous for his work on telomerase, an enzyme that forms telomeres during DNA duplication. Together with Elizabeth Blackburn and Carol Greider, he received the 2009 Nobel Prize in Medicine.

² Thomas Robert Cech is an American chemist, biochemist and university professor who was awarded the Nobel Prize in Chemistry in 1989 "for discoveries of the chemical processes of catalytic properties of ribonucleic acid".



Paula Ochoa Mejía is a student of the Biotechnology Degree at the Faculty of Experimental Sciences (Universidad Pablo de Olavide). Her academic interests include genetics and technology.



Julio Ramírez Guerrero is a Biotechnology student at the Faculty of Experimental Sciences (Universidad Pablo de Olavide). His academic interests include health, sports (he is considered a high-performance athlete) and genetics.



Rocío Mondaca Marcelo is a Biotechnology student at the Faculty of Experimental Sciences (Universidad Pablo de Olavide). Her academic interests include genetics and virology.



María Blanca Nieto Ponce is a Biotechnology student at the Faculty of Experimental Sciences (Universidad Pablo de Olavide). Her study motivations include environmental sciences and genetics.

Análisis de las respuestas a la infección por SARS-CoV-2 en personas con distintos factores hematológicos, bioquímicos y genéticos

María de los Reyes Becerra Pérez, Adriana Ybarra Jungkurth

Resumen— La pandemia causada por la COVID-19 ha llevado a multitud de científicos alrededor del mundo a trabajar contrarreloj con el objetivo de entender más acerca del avance de la enfermedad. Cada vez más estudios detallan el mecanismo de acción y de entrada del SARS-CoV-2 en el organismo, haciendo posible la identificación de aquellos factores determinantes en el desarrollo de la infección vírica y de la enfermedad asociada. En este artículo se comentan algunos de los descubrimientos más recientes acerca de las distintas disposiciones genéticas, hematológicas y bioquímicas individuales que permiten hacer una distinción en el desarrollo de la enfermedad entre distintos grupos de individuos. Se distingue así entre mayor o menor susceptibilidad de presentar un cuadro clínico más grave al contraer el SARS-CoV-2.

Palabras Claves—Anticuerpos, Inmunología, COVID-19, Sangre, SARS-CoV-2.

1. INTRODUCCIÓN

Hace aproximadamente un año el virus SARS-CoV-2 apareció en nuestras vidas y la cambió drásticamente, desatando así una alarma mundial al declararse la pandemia de la COVID-19 a mediados del 2020. A partir de entonces, los estudios científicos relacionados con este virus han ido creciendo exponencialmente. Los efectos causados por el SARS-CoV-2 pueden variar de una persona a otra considerablemente causando desde una infección asintomática o con síntomas leves hasta una neumonía grave, insuficiencia respiratoria o incluso la muerte. El entendimiento acerca de la variedad de respuestas es aún una incógnita, lo cual motiva a llevar a cabo investigaciones alrededor del mundo donde se pretende identificar factores claves para el progreso de la enfermedad. Así, se han realizado tanto estudios hematológicos y bioquímicos como estudios que relacionan el sexo, la etnia y la raza con la susceptibilidad a infección por el SARS-CoV-2.

2. INFECCIÓN POR SARS-CoV-2; FACTORES

A día de hoy contamos con un gran número de estudios que abordan las diferencias entre predisposiciones y riesgos para contraer enfermedades infecciosas en personas con distintos factores hematológicos, empezando por los pioneros estudios llevados por Helmbold y Vogel en los años 60. Las hipótesis relacionadas a esta asociación

incluyen polimorfismos en grupos sanguíneos ABO, la prevalencia y distribución de loci genéticos específicos y la traducción de proteínas involucradas en una respuesta específica a la infección (ej., receptores o proteínas de unión a receptores), en términos de una mayor o menor capacidad de entrada del virus en su célula diana.

El virus del SARS-CoV-2 entra en la célula gracias a que la proteína Spike (S) de su envuelta es reconocible por el receptor ACE2 situado en la membrana celular de las células humanas. A que se dé esta entrada además ayuda la presencia de la proteasa específica de serina transmembrana 2 (TMPRSS2), que facilita el "priming" o preparación de la proteína S. Esta observación hace que tanto el receptor como la proteasa se conviertan en biomoléculas prometedoras como diana para terapias preventivas [8]. Adicionalmente, también suponen objeto de estudio en cuanto a la probabilidad de que una persona cuyas proteínas se vean afectadas por factores externos pueda ser susceptible de infección. En este artículo trataremos algunos de los factores que pueden alterar dicha infección, muchos de ellos relacionados con estas proteínas.

2.1. Grupo sanguíneo

En 2005, Cheng et al. ya reportaron que la susceptibilidad de infección por el SARS-CoV en un grupo de empleados sanitarios de Hong Kong estaba influenciado por el sistema ABO de grupo sanguíneo. Dado que en 2020 un estudio por Lu et al. [11] explica la similitud en estructura del SARS-CoV con el SARS-CoV-2, no resulta sorprendente que muchos investigadores se planteen la posibilidad de que el

polimorfismo en el sistema ABO de grupo sanguíneo sea un factor determinante a la hora de contraer el famoso virus que causa la COVID-19.

En un estudio llevado a cabo por Golinelli et al. [4], en julio de 2020, se realizó un meta-análisis para estudiar la probabilidad de pertenecer a un grupo sanguíneo distinto entre pacientes positivos de SARS-CoV-2 comparados a grupos controles. Además, se realizaron análisis de sensibilidad y de subgrupos con el fin de estudiar la heterogeneidad y la consistencia de los resultados. Así, consiguieron asociar la prevalencia de cada grupo sanguíneo con la infección por SARS-CoV-2: los resultados del estudio sugieren que el grupo A está asociado con un incremento en el riesgo de infección, mientras que para los miembros del grupo O este riesgo de infección se ve reducido. Los análisis de subgrupo y de sensibilidad también mostraron resultados similares, pues se observó que los pacientes positivos parecían pertenecer más frecuentemente al grupo A que al grupo O. No se observó relación ninguna para los grupos B y AB.

El polimorfismo en grupo sanguíneo ABO ya se vio relacionado a la infección por SARS-CoV entre los años 2002 y 2003. Si bien muchos investigadores han defendido que esta susceptibilidad no se presenta con el SARS-CoV-2, muchos estudios han reportado la similitud en los mecanismos de entrada a la célula humana entre el SARS-CoV y el SARS-CoV-2, apoyándose en la similitud de los receptores ACE1 y ACE2 que reconocen a ambos virus. La enzima de conversión de angiotensina I (ACE1) y su más recientemente descubierta homóloga ACE2 son dos enzimas antagonistas a la ruta RAS que actúan de forma complementaria la una a la otra. El rol principal de ACE1 es la conversión de la angiotensina I a angiotensina II, siendo la segunda un péptido que causa vasoconstricción, fibrosis y proliferación celular. Un ratio ACE1/ACE2 elevado protege frente a disfunciones endoteliales y patologías vasculares. El SARS-CoV-2 entra en las células humanas utilizando el receptor del SARS-CoV ACE2 y la enzima TMPRSS2 para el "priming" de la proteína Spike. Debido a esta función, se ha descrito en varios artículos como una baja expresión de ACE2 limita la receptividad del virus.

Se ha demostrado cómo una variación cuantitativa en los niveles de ACE1 puede ser modulada por el locus del gen para el grupo sanguíneo ABO. Adicionalmente, algunos polimorfismos en ABO seleccionados influyen a la respuesta a tratamientos con inhibidores de ACE, pudiendo contribuir a reducir la transmisión del SARS-CoV [9].

Como ya explicaba el estudio de Guillon et al. [10], los pacientes pertenecientes al grupo O presentan un menor riesgo de infección, bajo la hipótesis de que los anticuerpos anti-A y anti-B contribuyen a proteger el organismo de enfermedades víricas.

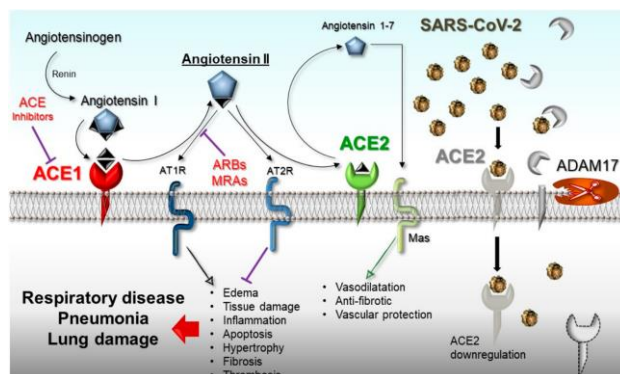


Fig. 1. Representación de la ruta RAS (sistema renina-angiotensina) en donde figuran el receptor ACE1 y ACE2. [8].

El análisis del estudio por Golinelli et al. [4] confirma una elevada susceptibilidad ligada al polimorfismo ABO también para el SARS-CoV-2. En concreto, de sus descubrimientos se especula que hay algunos factores de riesgo para el grupo A y algunas características de protección para el grupo O, posiblemente afectando a la respuesta biológica del organismo.

De la misma forma, en un estudio llevado a cabo por Ray et al. [1] se estudió la respuesta ante el SARS-CoV-2 asociando el grupo ABO y los distintos grupos sanguíneos Rh (positivos o negativos). Llegaron a la conclusión que aquellas personas Rh- tienen una mayor protección contra el virus que aquellas personas que son Rh+. Este factor no se ha llegado a estudiar a fondo, pero se sabe que es menos influyente que los comentados anteriormente.

2.2. Anticuerpos Anti-A

Otros estudios, como el de Dutra et al. [5], han sugerido que la capacidad de producción de anticuerpos anti-A, y no el grupo sanguíneo, es la que va a determinar cómo se va a responder ante el virus. Este anticuerpo se encuentra presente en los grupos sanguíneos O y B, y ausente en los grupos A y AB. Para este estudio, se tomaron personas infectadas y se dividieron en 2 grupos: con anti-A y sin anti-A; se midió la producción de anticuerpos neutralizantes y de inmunoglobulinas específicas (IgA, IgM e IgG) en ambos grupos. Observaron que aquellos grupos con el anticuerpo anti-A mostraron una mejor respuesta ante el SARS-CoV-2 y una menor producción de IgA, IgM, IgG y anticuerpos neutralizantes. Como ya explicaba el estudio de Guillon et al. [10], los pacientes pertenecientes al grupo O presentan un menor riesgo de infección, bajo la hipótesis de que los anticuerpos anti-A y anti-B contribuyen a proteger el organismo de enfermedades víricas.

2.3. Otros factores hematológicos y bioquímicos

Se han estudiado también cómo afectan a la infección otros factores bioquímicos y hematológicos (Abdulla et

al.[2]), entre ellos cabe destacar los siguientes.

Se obtienen unos resultados altamente significativos que muestran como la leucopenia (baja producción de glóbulos blancos) ocurre en la mayoría de los pacientes enfermos.

De igual manera, también suelen padecer de linfocitopenia (baja cantidad de linfocitos en sangre). Esto se debe a que la infección por SARS-CoV-2 va a inducir la síntesis de citoquinas inflamatorias (L-7 IL-2, IL-6, TNF-a e interferón Gamma) dando lugar a lo que se conoce como una tormenta de citoquinas, provocando la apoptosis de los linfocitos y, además, la atrofia de los órganos linfoides.

Los niveles de ferritina sérica aumentan de manera considerable al producirse la infección. Esta proteína tiene un papel muy importante en la desregulación de la respuesta inmunológica cuando sus niveles en sangre son elevados y también tiene una acción proinflamatoria, participando en la tormenta de citoquinas.

Asimismo, se ha comprobado cómo los niveles de urea en la sangre y creatinina sérica aumentan en las personas infectadas, sobretodo en las mujeres, dando lugar a posibles enfermedades renales. Esto es debido a que las células en los riñones presentan una importante cantidad de receptores ACE2.

Los altos niveles de dímero-D tienen una relación altamente significativa con la infección por SARS-CoV-2. Este factor va a ser capaz de afectar al tiempo de coagulación en los pacientes. Como consecuencia, los pacientes infectados pueden desarrollar septicemia (una de las principales causas de coagulación intravascular diseminada).

2.4. Patologías previas; obesidad

Ciertas patologías, como la obesidad, pueden ser un importante factor de riesgo para aquellas personas que estén infectadas por SARS-CoV-2. En el caso de la obesidad, Dylan et. al [7] hizo un estudio con ratones donde se vio la expresión del gen ACE2 y de TMPRSS2 en el pulmón, tráquea y esófago; esta variación se observó que era dependiente de la dieta y del sexo.

En los ratones machos obesos se observó como la expresión de ACE2 aumentó de forma significativa en el pulmón y en la tráquea. Sin embargo, la expresión en el esófago no varió significativamente. También hubo una reducción significativa de la expresión de TMPRSS2 en la tráquea.

Por otro lado, en las hembras obesas la expresión de ACE2 se redujo significativamente en el esófago y TMPRSS2 se redujo en el pulmón y se elevó en la tráquea. Con este estudio se puede observar como en ratones se encuentran patrones de expresión sexualmente dimórficos de ACE2 y TMPRSS2. Sin embargo, se desconoce si en los humanos pasaría de la misma manera, todo sería

estudiarlo.

Lo que sí se sabe con seguridad, tras la realización de un meta-análisis, es que la obesidad se encuentra entre los factores de riesgo más altos que influyen en el diagnóstico de COVID-19, hospitalización, ingreso en UCI y mortalidad; y que los hombres tienen una mayor mortalidad que las mujeres (2,5%).

2.5. Infección por SARS-CoV-2 en función del sexo

Tras varios meses de pandemia se ha observado el patrón de infección y mortalidad del virus, el cual indica que las personas del sexo masculino parecen tener un 65% más de posibilidades de morir por la infección de SARS-CoV-2 que las del sexo femenino. Los datos de la OMS y de científicos chinos muestran que del total de casos alrededor de un 1.7% de mujeres XX que contraen el virus fallecen en comparación al 2.8% de los hombres XY. Asimismo, datos de hospitales de Hong Kong muestran que el 32% de los hombres requieren un cuidado intensivo por infección del SARS-CoV-2, versus el 15% de las mujeres. A pesar de los datos arrojados por la OMS o por estudios tal vez controlados, algunas evidencias científicas sí deben considerarse [8].

Para empezar, el SARS-CoV-2 tiene una alta interacción con el receptor ACE2 humano, que, como ya se ha descrito, presenta un papel fundamental en la entrada de la célula durante la infección junto a la proteína TMPRSS2. Pues bien, es interesante recalcar que el gen para ACE2 se encuentra en el cromosoma X, de esta forma permitiendo a las personas de sexo femenino potencialmente ser heterocigotas para este gen al poseer dos copias de este cromosoma, en contraste a las personas de sexo masculino, las cuales al poseer una sola copia del cromosoma X son evidentemente homocigóticas para este gen. En segundo lugar, muchos de los genes involucrados en la inflamación se encuentran en el cromosoma X, junto a un gran número de otros genes involucrados en la respuesta inmune primaria y secundaria. Adicionalmente, las personas de sexo femenino con heterocigosis en el cromosoma X probablemente activen también una ventaja en mosaico y presenten diferencias ligadas al sexo más pronunciadas, resultando en un dimorfismo por sexo, favoreciéndoles a la hora de contrarrestar la progresión de la infección del SARS-CoV-2. De este modo, la diferencia entre el número de copias de genes ligados al cromosoma X involucrados en la respuesta inmune y la presencia de genes dedicados a la susceptibilidad en personas de sexo masculino y femenino posiblemente explique la diferencia entre las infecciones por ambos sexos [8].

La eficiencia del reconocimiento entre el receptor ACE2 humano y la proteína S del virus, así como su interacción, son determinantes para una exitosa infección y

receptividad. Recientemente se ha observado que en el complejo formado por la proteína S y el receptor ACE2 existen unos aminoácidos cruciales para que se dé el reconocimiento en un proceso de homo-dimerización. Así pues, la funcionalidad de ACE2 es esencial tanto para la homeostasis en los pulmones como para la entrada del virus en la célula, y, dado que se especula que las mujeres tengan un mayor grado de formación de heterodímeros que los hombres, presentan diferentes afinidades por la proteína S del SARS-CoV-2. De forma similar, polimorfismos de un solo nucleótido (del inglés, SNPs) dentro del gen TMPRSS2 pueden también presentar un mayor rol en los polimorfismos que se ven en la población y entre sexos, proponiendo una hipótesis acerca de la mayor expresión en hombres XY a favor de la entrada del virus en la célula al ser el gen TMPRSS2 susceptible a respuesta por hormonas andrógenas. Curiosamente, la caída de estrógenos en mujeres XX menopáusicas afecta a la expresión del gen TMPRSS2, siendo así sensible a estas hormonas también [8].

Lo más probable es que una combinación entre los mecanismos descritos sea lo que provoque una mayor o menor influencia sobre la patogénesis, además sobre la brecha que destaca en infecciones en personas de distinto sexo, considerando también que el locus del gen ACE2 está localizado en el cromosoma X. Esencialmente, alelos heterocigóticos ligados al cromosoma X pueden activarse en mujeres XX generando un mosaico de respuestas ventajosas y un mayor dimorfismo sexual que posiblemente contrarreste la infección viral, inflamación local y otras respuestas severas relacionadas al SARS-CoV-2.

CONCLUSIONES

La pandemia por la COVID-19, causada por el SARS-CoV-2, constituye una enfermedad compleja, multifactorial y severa en la cual la genética humana, debido a predisposiciones heredadas, posiblemente juegue un papel crucial junto a comorbilidades preexistentes y condiciones de riesgo adquiridas. Factores no modificables como la edad o el sexo, junto a factores modificables clásicos como el factores de riesgo cardiovascular o enfermedades previas, juegan un papel crucial en el destino de la infección por SARS-CoV-2, de los pronósticos y de la tasa de mortalidad. Asimismo, el mecanismo de infección por SARS-CoV-2, debido a la entrada basada en el receptor ACE2, puede estar alterada por susceptibilidad desarrollada o genética del individuo.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras desean agradecer al Profesor Dr. Guillermo López Lluch por su docencia en la asignatura de Inmunología

del 4º curso del Grado en Biotecnología En ella las autoras recibieron formación en profundidad acerca del SARS-CoV-2, entendiendo su mecanismo de entrada y de acción en la célula, despertando así el interés en escribir este artículo.

REFERENCIAS

- [1] Ray, J. G., Schull, M. J., Vermeulen, M. J., & Park, A. L. (2020). Association Between ABO and Rh Blood Groups and SARS-CoV-2 Infection or Severe COVID-19 Illness. *Annals of Internal Medicine*.
- [2] Kamil Abdulla, A., A Salman, O., & Ahmed Mahmood, A. (n.d.). Study of Some Hematological, and Biochemical Parameters in Patients with SARS-CoV-2 in Kirkuk City/Iraq. Retrieved December 21, 2020, from <http://sysrevpharm.org/index.php?mno=755>
- [3] Yamamoto, F., Yamamoto, M., & Muñiz-Díaz, E. (2020). Blood group ABO polymorphism inhibits SARS-CoV-2 infection and affects COVID-19 progression. In *Vox Sanguinis*. Blackwell Publishing Ltd.
- [4] Dutra, V. F., Bub, C. B., Yokoyama, A. P. H., Durigon, E. L., Fachini, R. M., Candelaria, G., Santucci, M., Neto, S. W., & Kutner, J. M. (2020). ANTI-A AND SARS-COV-2: AN INTRIGUING ASSOCIATION. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 42, 516–517.
- [5] Niles, J. K., Karnes, H. E., Dlott, J. S., & Kaufman, H. W. (2020). Association of ABO/Rh with SARS-CoV-2 positivity: The role of race and ethnicity in a female cohort. In *American Journal of Hematology*. Wiley-Liss Inc.
- [6] Anastassopoulou, C., Gkizarioti, Z., Patrinos, G. P., & Tsakris, A. (2020). Human genetic factors associated with susceptibility to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease severity. In *Human Genomics* (Vol. 14, Issue 1, p. 40). BioMed Central Ltd.
- [7] Dylan C. Sarver, G. William Wong. (2020). Obesity alters Ace2 and Tmprss2 expression in lung, trachea, and esophagus in a sex-dependent manner: Implications for COVID-19. *Biochemical and Biophysical Research Communications*.
- [8] Gemmati, D., Bramanti, B., Serino, M. L., Secchiero, P., Zauli, G., & Tisato, V. (2020). COVID-19 and Individual Genetic Susceptibility/Receptivity: Role of ACE1/ACE2 Genes, Immunity, Inflammation and Coagulation. Might the Double X-Chromosome in Females Be Protective against SARS-CoV-2 Compared to the Single X-Chromosome in Males? *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10), 3474. <https://doi.org/10.3390/ijms21103474>
- [9] Cheng, Y., Cheng, G., Chui, C. H., Lau, F. Y., Chan, P. K. S., Ng, M. H. L., Sung, J. J. Y., & Wong, R. S. M. (2005). ABO blood group and susceptibility to severe acute respiratory syndrome [5]. In *Journal of the American Medical Association* (Vol. 293, Issue 12, pp. 1450–1451). American Medical Association. <https://doi.org/10.1001/jama.293.12.1450-c>
- [10] Guillon P, Clément M, Sébille V, et al. Inhibition of the interaction between the SARS-CoV spike protein and its cellular receptor by anti-histo-blood group antibodies. *Glycobiology*. 2008; 18(12):1085–1093.

<https://doi.org/10.1093/glycob/cwn093> PMID: 18818423

- [11] Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020; 395(10224):565–574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8) PMID: 32007145



María de los Reyes Becerra Pérez. Estudiante del 4º curso del Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla). Participó en la asignatura de Inmunología en el primer semestre del curso 2020/21.



Adriana Ybarra Jungkurth. Actualmente cursando el cuarto curso del Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla). Cursó la asignatura de Inmunología en el primer semestre del curso 2020/21.

Autoinmunidad según el sexo: ¿Somos tan distintos?

Alicia Moreno Pantoja, Violeta Sánchez Carvajal

Resumen— La problemática de las enfermedades autoinmunes hace que sean objeto de estudio para reducir en lo posible sus efectos. En este artículo se describe la importancia del factor ambiental y se hace distinción entre hombres y mujeres para entender mejor el desarrollo de enfermedades autoinmunes y se resumen las terapias y tratamientos que se están utilizando en la actualidad para combatir estas enfermedades.

Palabras Claves— Autoinmune, Factor sexual, Ambiente, Hormonas

1. INTRODUCCIÓN

Existen a día de hoy, muchas enfermedades que provocan la necesidad de investigarlas para encontrar alguna posible solución. Hay enfermedades comunes o raras a consecuencia de la combinatoria de genética y medio ambiente. No debemos olvidar las enfermedades en las que el propio sistema inmune, el cual debería proteger, destruye a la persona: las enfermedades autoinmunes. Lupus, enfermedad de Addison, Diabetes tipo I, entre otras, son enfermedades autoinmunes conocidas. Sin embargo, ¿estas enfermedades se dan con la misma frecuencia en hombres y mujeres? ¿Por qué es esto así?

2. AUTOINMUNIDAD Y ENFERMEDAD AUTOINMUNE

2.1. Factores de riesgo: factor ambiental y genético

Las enfermedades autoinmunes abarcan gran cantidad de enfermedades donde el sistema inmune ataca a los propios antígenos, dando lugar a daño en células y tejidos. El sistema inmune está formado por diferentes tipos de células, que dan lugar a la inmunidad adquirida e innata, las cuales, pueden agravar las respuestas autoinmunes. Están asociadas a genes del antígeno leucocitario humano (HLA) mediante diferentes mecanismos que presentan variabilidad genética tanto en la respuesta inmune como en la capacidad para presentar antígenos.

Anteriormente, se pensaba que este tipo de enfermedades presentaban una herencia autosómica dominante, pero ahora se sabe que es debido a la actuación de los genes más comunes del genoma humano. [1]

Los factores ambientales, como en muchas enfermedades, pueden inducir o no el desarrollo de enfermedades autoinmunes. Por un lado, tenemos el ejemplo de gemelos, donde el factor de riesgo de padecer este tipo de enfermedad, no solo se puede explicar mediante la genética, sino también, por factores ambientales distintos a los que han estado expuestos. [1]

Por otro lado, estudio en Finlandia, demostró que gemelos dicigóticos expuestos a los mismos factores ambientales presentaban una mayor correspondencia con esclerosis múltiple (EM) en los últimos años. Ambos casos demuestran la importancia de los factores ambientales en

las enfermedades. Los factores ambientales más comunes son: exposición a compuestos químicos, toxinas, ciertos componentes de la dieta...[1]

Sin embargo, no podemos olvidar un componente importante del genoma: la presencia o ausencia del cromosoma Y, influyendo en el riesgo de padecer alguna enfermedad de este tipo.

2.2. Factores de riesgo: factor sexual

En muchas enfermedades autoinmunes existen distinciones sexuales. Según estudios, las mujeres se ven afectadas con mayor frecuencia respecto a los hombres. Esta diferencia puede ser leve, como ocurre en la EM, o fuerte como en la cirrosis biliar primaria (CBP).

También se ha observado, que esta frecuencia está cambiando. Por ejemplo, a día de hoy, el predominio de la EM en mujeres ha aumentado respecto a unos años atrás. Esto se puede deber en gran medida, a factores ambientales, como se puede observar en la Figura 1.

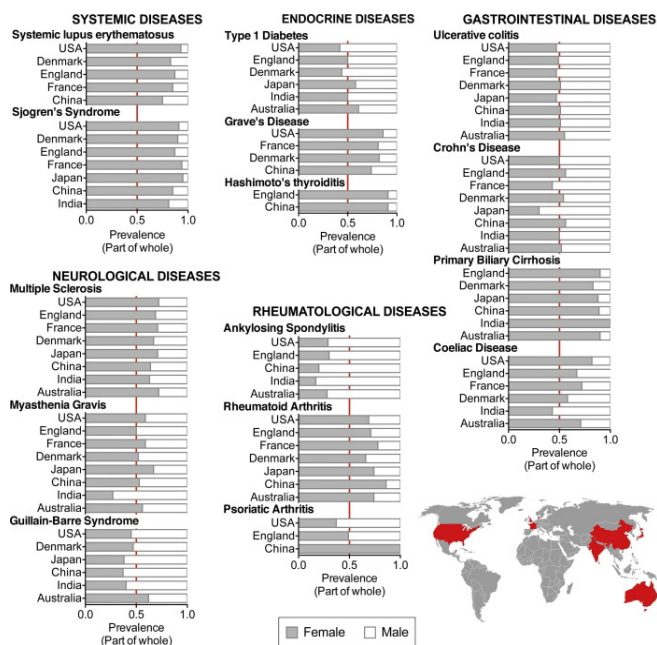


Fig. 1. Frecuencia de enfermedades autoinmunes según el género. Se aprecia una clara diferencia entre hombres y mujeres. Siendo las mujeres, generalmente, las que con más frecuencia padecen este tipo de enfermedad.[1]

Además, dependiendo de la enfermedad, la gravedad varía según el género. Por ejemplo, la EM, a pesar de ser más frecuente en mujeres, es más grave en hombres.

3. MUJERES Y HOMBRES: DIFERENCIAS EN EL SISTEMA INMUNE

Genéticamente hablando, existen muchas diferencias entre hombres y mujeres. Un claro ejemplo sería el sistema inmunológico. Los hombres tienden a ser más vulnerables a enfermedades respecto a las mujeres. Esto podría explicarse por la presencia de una mayor reactividad inmunológica en las hembras. Sin embargo, esta gran reactividad aumenta las posibilidades de padecer una enfermedad autoinmune. [2]

3.1. Células del sistema inmune

Las células de la línea linfóide (como linfocitos T, linfocitos B y las "natural killers" (NK)) y las de la línea mieloide (como neutrófilos, monocitos, macrófagos, basófilos y eosinófilos) son las células por las que se compone el sistema inmune, como se puede observar en la Figura 2.

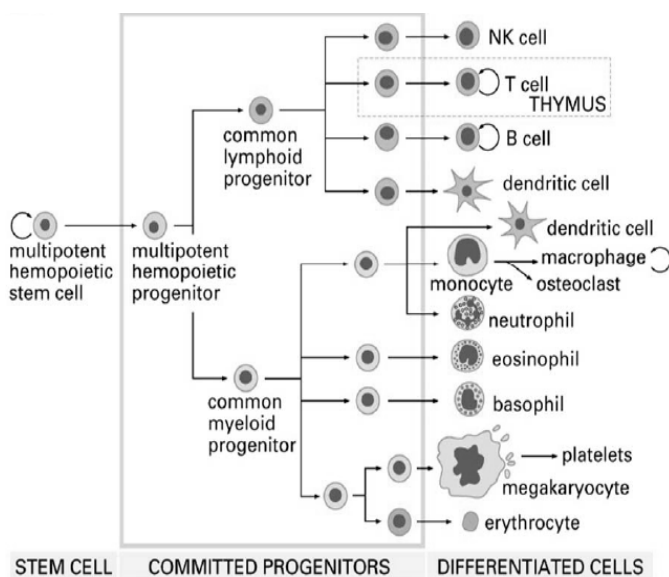


Fig. 2. Linajes celulares.

A partir de una célula progenitora pluripotencial se pueden generar dos tipos celulares cuya potencialidad disminuye, quedando únicamente capacitadas para generar células de un determinado linaje: el linaje linfóide (célula pluripotencial linfóide) o linaje mielóide (célula pluripotencial mielóide). Subsiguientes divisiones irán dando lugar a un solo tipo celular hasta que la célula sólo es capaz de dar lugar a un tipo celular específico. [3]

Los linfocitos T secretan diferentes citosinas como IL-2, IL-4, IL-10, IFN γ y TNF α que conforman la inmunidad adaptativa. Los linfocitos B producen los anticuerpos IgM e IgG y las células NK producen la inmunidad innata.

Aunque el número de linfocitos totales sea el mismo en hombres y mujeres, los hombres tienen una menor cantidad de linfocitos T, mientras que las mujeres posmenopáusicas tienen menor cantidad de linfocitos B y T colaboradores (Th). Está comprobado que las mujeres tienden a producir mayor cantidad de anticuerpos, lo que generaría respuestas más fuertes frente a antígenos. [2]

3.2. Vulnerabilidad de los órganos diana

Una enfermedad autoinmune se produce cuando el autoataque produce el daño de órganos diana. Este tipo de enfermedad se puede producir sin que sea evidente, por lo que hay dos problemas: la propia autoinmunidad y la capacidad que tenga el órgano diana para aguantar el ataque.

Existen diferencias por género en la capacidad de los órganos diana para soportar el daño. En general, las mujeres tienen mayor resistencia, debido a propiedades citoprotectoras por parte de los estrógenos.[4]

3.3. Etapas reproductivas: Pubertad, embarazo y menopausia

La carga reproductiva puede variar el riesgo a la autoinmunidad, sobre todo en mujeres.

3.3.1. Pubertad

Durante la pubertad se producen cambios hormonales que ocasionan que, tras el inicio de esta, la probabilidad de padecer una enfermedad autoinmune cambie. Por ejemplo, hay mayor riesgo de padecer EM con el inicio de esta etapa. [5]

3.3.2. Embarazo

De igual forma, durante el embarazo, se produce una gran cantidad de cambios hormonales como estríol, progesterona, prolactina, factor de embarazo temprano y factores de crecimiento. Además, se producen cambios fisiológicos como aumento de peso, aumento de niveles de lípidos, entre otras.

Durante el embarazo se tiende a inhibir el sistema inmunológico materno, provocando cambios en la respuesta a la enfermedad. Según la enfermedad que sea, con el embarazo mejorará, empeorará o no mostrará variación. [1]

Estudios recientes, han revelado que la transferencia transplacentaria de anticuerpos de la madre al feto es muy importante frente a ciertas enfermedades. Por ello, es de especial relevancia la vacunación materna ya que tiene efectos protectores durante el embarazo, además los cambios inmunitarios que se producen durante la gestación no interfieren en la respuesta que el cuerpo experimenta frente a la vacuna. [6]

3.3.3. Menopausia

Esta etapa se caracteriza por niveles más bajos de estrógenos y progesterona, niveles máximos de la hormona estimulante del folículo (FSH), se acaba el número de folículos y cesa la menstruación. De igual forma, según el tipo de enfermedad, la respuesta cambia. En un estudio, se informó sobre la disminución de la frecuencia de los brotes en el lupus eritematoso sistémico (LES) con la menopausia, sin embargo, una menopausia temprana se asocia a un mayor riesgo de padecer LES. [7][8]

3.4. Hormonas sexuales en autoinmunidad

Las hormonas sexuales tienen un gran efecto sobre los linfocitos T y B, células NK, granulocitos y macrófagos. Intervienen de igual manera en la producción y liberación de citoquinas y proteínas inmunoregulatoras. [9]

Recientes estudios, demuestran que las hormonas sexuales esteroideas actúan inhibiendo o activando distintos componentes del sistema inmune. Es el caso de los linfocitos T, cuya población disminuye durante la menopausia. Por otra parte, con los monocitos ocurre lo contrario, su población es mayor durante la menopausia que en edad reproductiva.

Antiguas investigaciones muestran como la mujer es más propensa a padecer enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso o la esclerosis múltiple (EM). La diferencia entre hombres y mujeres en este aspecto radica en las hormonas sexuales, ya que, los niveles altos de estrógenos favorecen la respuesta humoral y en consecuencia se generan anticuerpos que reaccionan hacia los propios antígenos.[9]

4. Enteropatía autoinmunitaria

Si bien es cierto que, por lo explicado anteriormente, la mayoría de enfermedades autoinmunes son más frecuentes en mujeres, no siempre ocurre así. Un ejemplo es la enfermedad de enteropatía inmunitaria que se presenta con más frecuencia en niños varones. En esta enfermedad, el sistema inmunitario destruye células del intestino, produciendo diarreas graves.

Es una enfermedad hereditaria recesiva ligada a X, causada por mutaciones en el gen FOXP3, localizado en Xp11.23. Este gen expresa un factor de transcripción, la escurfina, que se expresa mayoritariamente en el tejido linfoide y células CD4+, CD25+. Su función es la de regular la transcripción de las células T colaboradoras.

Es una enfermedad caracterizada por un pronóstico pobre y una alta tasa de mortalidad en el primer y segundo año de vida. [10]

5. Avances en el tratamiento de enfermedades autoinmunes

Ante la problemática existente con las enfermedades autoinmunes, es imprescindible el estudio de diferentes so-

luciones. Entre ellas, destacan diferentes terapias que tratan de combatir los síntomas autoinmunes en la medida de lo posible.

5.1. Terapias

De las terapias más utilizadas para el tratamiento de enfermedades autoinmunes como la enteropatía autoinmunitaria, es el trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas (TCMH) en el tejido dañado.

Otra alternativa que todavía está en estudio, es la terapia con células T reguladoras, se espera que consiga restaurar la tolerancia periférica, suprimir la inflamación y promover la reparación de tejidos. [10]

Además, suelen combinarse muchos medicamentos. Sin embargo, debido al riesgo de propagación al cerebro y a la médula espinal, el mejor tratamiento es el anteriormente mencionado.

5.2. Inmunosupresión y antiinflamatorios

Los tratamientos convencionales se basan en reducir la inflamación, usando inhibidores de la prostaglandina-ciclo-oxigenasa para una reducción no específica.[11]

5.3. Anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales son una de las terapias utilizadas en el tratamiento de este tipo de enfermedades. Para su producción se utilizan modelos animales, tales como el conejo o el caballo. El procedimiento por el cual se obtienen estos anticuerpos, consiste en primer lugar, en inyectar al animal el patógeno o sustancia frente a la que se desea obtener inmunoglobulinas. A continuación, se extrae el suero del animal y mediante diferentes técnicas se aíslan los anticuerpos. La idea es obtener anticuerpos monógenos frente a un tipo de antígeno.

En el caso del trabajo con ratones, se inyecta a estos organismos el antígeno de interés y posteriormente se aíslan los linfocitos B producidos. Estos linfocitos se fusionan con células inmortales para que no mueran en cultivo in vitro, lo que se conoce como hibridomas.[12]

Los anticuerpos monoclonales son administrados vía intravenosa. No suelen generar efectos secundarios graves, aunque, podría ocasionar problemas a algunas personas. [11]

5.4. Análogos del péptido

Rompen la unión entre el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y el autoantígeno-T del receptor de la célula, lo cual provocaría la respuesta autoinmune. Consiste en diferentes drogas que inhiben esta respuesta de diferentes maneras:

- El péptido puede cegar la presentación del auto-

- antígeno al sistema inmune. Impidiend que se activen los linfocitos T.
- El péptido puede inhibir la proliferación de los linfocitos T.
- Puede estimular los linfocitos T colaboradores.
- Estimula la diferenciación de los linfocitos T reguladores que detectan al autoantígeno.
- Puede inhibir la tormenta de citoquinas, impidiendo la inflamación y destrucción del tejido. [11]

6.CONCLUSIONES

Las enfermedades autoinmunes son problemas que afectan a una de cada 10 personas. Pese a su importancia, al ser tan complejas y heterogéneas es difícil proporcionar un buen tratamiento a cada paciente. También hay que destacar que, debido a diferencias en el sistema endocrino entre mujeres y hombres, hay cambios en la probabilidad de padecer enfermedades autoinmunes, siendo las mujeres las que más prevalencia tienen.

Son enfermedades muy peligrosas con una alta mortalidad, debido a que nuestro sistema inmune, el cual nos debería proteger contra agentes potencialmente dañinos, ataca y daña los tejidos propios.

Nuevas terapias están siendo estudiadas para el tratamiento de estas enfermedades, con las que se han mostrado ciertos efectos terapéuticos. Pese a que el uso de inmunosupresores ha sido, durante muchos años, la terapia más efectiva para el tratamiento de estas enfermedades, están asociados a una elevada toxicidad y presentación de efectos secundarios. Por ello, hoy en día, una de las terapias pioneras es la basada en el uso de anticuerpos monoclonales. Sin embargo, todavía presenta un elevado coste, por lo que representa un problema en su uso.[13]

REFERENCIAS

- [1] S. T. Ngo, F. J. Steyn, and P. A. McCombe, "Gender differences in autoimmune disease," *Frontiers in Neuroendocrinology*, vol. 35, no. 3. Academic Press Inc., pp. 347–369, 01-Aug-2014.
- [2] T. Giglio *et al.*, "Immune cell circulating subsets are affected by gonadal function," *Life Sci.*, vol. 54, no. 18, pp. 1305–1312, Jan. 1994.
- [3] J. H. Esensten, Y. D. Muller, J. A. Bluestone, and Q. Tang, "Regulatory T-cell therapy for autoimmune and autoinflammatory diseases: The next frontier," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 142, no. 6, pp. 1710–1718, Dec. 2018.
- [4] R. L. Roof and E. D. Hall, "Gender differences in acute CNS trauma and stroke: Neuroprotective effects of estrogen and progesterone," *J. Neurotrauma*, vol. 17, no. 5, pp. 367–388, Jan. 2000.
- [5] S. V. Ramagopalan *et al.*, "Sex ratio of multiple sclerosis and clinical phenotype," *Eur. J. Neurol.*, vol. 17, no. 4, pp. 634–637, Apr. 2010.
- [6] A. Kachikis, L. O. Eckert, and J. Englund, "Who's the Target: Mother or Baby?," *Viral Immunol.*, vol. 31, no. 2, pp. 184–194, Mar. 2018.
- [7] M. Fernández *et al.*, "Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort (LUMINA): XXI. Disease activity, damage accrual, and vascular events in pre- and postmenopausal women," *Arthritis Rheum.*, vol. 52, no. 6, pp. 1655–1664, Jun. 2005.
- [8] K. H. Costenbader, D. Feskanich, M. J. Stampfer, and E. W. Karlson, "Reproductive and menopausal factors and risk of systemic lupus erythematosus in women," *Arthritis Rheum.*, vol. 56, no. 4, pp. 1251–1262, Apr. 2007.
- [9] R. I. Barañao, "Hormonas sexuales y respuesta inmunológica," *Saegre*, vol. 16, no. 2, pp. 20–30, 2009.
- [10] C. Eugenia *et al.*, "Nueva mutación identificada en el gen FOXP3 en lactante menor con diarrea crónica como manifestación de enteropatía autoinmune-Síndrome IPEX New mutation in FOXP3 gene identified in an infant with chronic diarrhea as manifestation of autoimmune enteropathy-IPEX syndrome Palabras clave: Síndrome IPEX; FOXP3; Enteropatía Autoinmune; Diarrea," *CASO CLÍNICO Rev Chil Pediatr*, vol. 91, no. 4, pp. 584–590, 2020.
- [11] "Avances en el tratamiento para las enfermedades autoinmunes." [Online]. Available: [https://www.news-medical.net/health/Advances-in-Treatment-for-Autoimmune-Diseases-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Advances-in-Treatment-for-Autoimmune-Diseases-(Spanish).aspx). [Accessed: 13-Dec-2021].
- [12] L. Ruiz Viera Tutor, J. Manuel Siverio Expósito Co-tutor, and A. Lancha Bernal, "ANTICUERPOS MONOCLONALES TERAPÉUTICOS."
- [13] J. Manrique and P. Cravedi, "Role of monoclonal antibodies in the treatment of immune-mediated glomerular diseases," *Nefrología*, vol. 34, no. 3. Grupo Aula Medica S.A., pp. 388–397, 01-May-2014.



Violeta Sánchez Carvajal nació el 31 de octubre de 1999 en Jerez de los Caballeros (Badajoz). Se graduó en 2015 de Educación Secundaria Obligatoria en el instituto IES Ramón Carande en el que realizó Bachillerato hasta 2017. Actualmente, estudia cuarto de Biología en la Universidad Pablo de Olavide.



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 cuarto de Biología en la Universidad Pablo de Olavide.

¿Para qué sirven las pastillas anticonceptivas?

M^a Dolores Berdún Reina

Resumen—Cuando hablamos de pastilla anticonceptiva nos referimos a la píldora anticonceptiva oral combinada (PAOC). Es un tratamiento hormonal que suprime la producción de progesterona y estradiol administrando análogos sintéticos. Su función más conocida, como bien dice su nombre, es evitar el embarazo. No es tan popular su uso frente a algunas enfermedades, pero sí son muy eficientes.

Palabras Claves— Endometriosis, Etinilestradiol, Mioma, Progestágeno, Síndrome de ovario poliquístico.

1. INTRODUCCIÓN

El día 11 de mayo de 1960 se aprobó la venta de Enovid en EEUU, el primer anticonceptivo oral, que se empezó a comercializar el 18 de agosto de ese mismo año. [1]

La aparición de este medicamento que evita el embarazo produjo un cambio en la investigación farmacológica, así como en la forma de vivir la sexualidad y la reproducción en la sociedad.

Su aparición se debe a la experimentación por parte de Russell Marker de las sapogeninas, un grupo de esferoides vegetales. Descubrió un proceso químico que transformaba la sapogenina diosgenina en progesterona, lo que abrió la puerta a la síntesis de esta hormona para su uso comercial. A las reacciones necesarias, en química se las llaman degradaciones, y en concreto esta, tomaba el nombre de "Marker Degradation". [2]

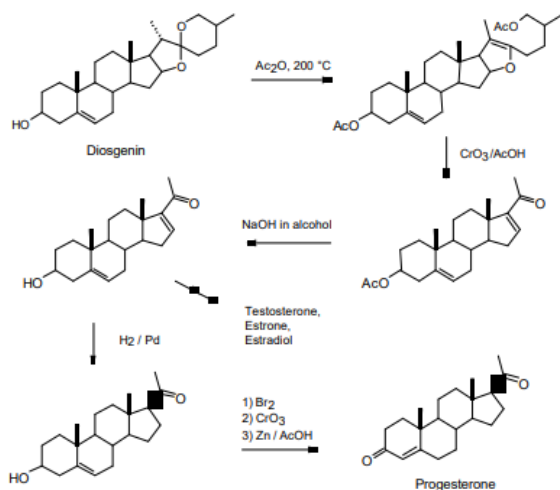


Fig. 1. Marker degradation. Serie de reacciones químicas que permiten la formación de progesterona a partir de diosgenina. [12]

Desde entonces, los laboratorios han puesto sus esfuerzos en encontrar otras hormonas sintéticas para me-

jorar el efecto farmacológico, pero sobre todo para disminuir los efectos secundarios que producen. [2]

En España no fue hasta el 7 de octubre de 1978 cuando se legalizó la comercialización y el uso de la píldora anticonceptiva, 18 años después. [3]

2. PÍLDORA ANTICONCEPTIVA ORAL COMBINADA

2.1. Composición

La píldora anticonceptiva oral combinada (PAOC) contiene etinilestradiol y un progestágeno. El etinilestradiol es un estrógeno que actúa de manera similar al estradiol. Su función en el organismo es regular la hemorragia y evitar la formación del folículo inhibiendo la hormona estimuladora del folículo (FSH).

Los progestágenos sintéticos actúan de la misma forma que la progesterona. La mayor parte del efecto anticonceptivo se debe a este compuesto, ya que suprimen la acción de la hormona luteinizante (LH) y con ella la ovulación.

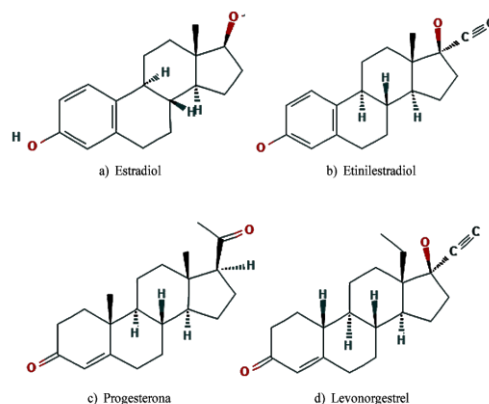


Fig. 2. a) Estradiol. Molécula natural. [13] b) Etinilestradiol. Estrógeno sintético. [14] c) Progesterona. Molécula natural. [15] d) Levonorgestrel. Progestágeno sintético más utilizado. [16]

Existen píldoras que solo contienen progestina y también actúan evitando la ovulación, pero se usa en mucha menor población que la píldora combinada. Es muy recomendada en pacientes que tienen contraindicaciones para el estrógeno. [4]

Los progestágenos más utilizados son: clormadinona, desogestrel, dienogest, drospirenona, ciproterona, gestodeno, norelgestromina, noretisterona, norgestimato, norgestrel y levonorgestrel. Este último es el más utilizado en la actualidad debido a sus pocos efectos adversos. [5]

2.2. Mecanismo de acción

Para entender cómo actúan las PAOC tenemos que ver lo que se conoce como eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal. El hipotálamo secreta la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). La función de esta hormona es activar la secreción de LH y FSH de la pituitaria anterior. La LH se encarga de estimular la ovulación. La FSH se encarga de la maduración de los óvulos. Ambas promueven la secreción de progesterona y estrógenos por parte de los ovarios. Lo que ocurre es que estas últimas inducen una retroalimentación negativa, inhibiendo los dos pasos anteriores para regular las cantidades hormonales. [6]

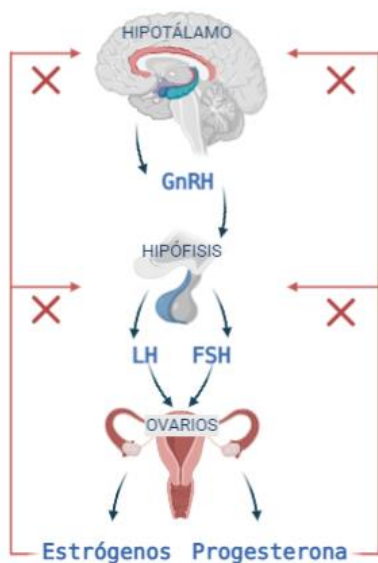


Fig. 3. Eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal. Realizado con biorender.com

La retroalimentación negativa del progestágeno actúa en el hipotálamo y reduce los pulsos que liberan la GnRH. Así disminuyen la LH y la FSH del organismo, el folículo no se desarrolla y se produce una disminución de estradiol. Se detiene el pico de LH que es el que se encarga de la liberación del folículo, y no se da la ovulación.

El estrógeno también inhibe el desarrollo del folículo por la retroalimentación negativa que ejerce sobre la pituitaria anterior paralizando la producción de FSH.

Otro mecanismo de acción para prevenir el embarazo es la capacidad de la progesterona, en este caso de los progestágenos sintéticos, para modificar la mucosa cervi-

cal y que así los espermatozoides no lleguen al tracto genital superior. [7]

Lo que hacemos con este medicamento es, con cantidades controladas de ambas hormonas, inhibir el eje. Además, el cuerpo deja de producir progesterona y estrógenos de forma propia, incorporando solamente la dosis diaria de cada pastilla.

Se administran en dosis diarias con diferentes cantidades hormonales, por eso es importante seguir el orden que viene en el blíster. Así simulan las variaciones hormonales naturales a lo largo del ciclo reproductivo manteniendo los picos de estradiol y progesterona que dan lugar a la menstruación.

3. FUNCIONES

El objetivo conocido de tomar la píldora anticonceptiva, como bien dice su nombre, es la anticoncepción. Pero el 14% de las mujeres la toman con fines terapéuticos. Entre ellos encontramos alteraciones relacionadas con la menstruación como el síndrome premenstrual, el dolor menstrual, la propia menstruación irregular, los miomas, el hipogonadismo femenino, el síndrome de ovario poliquístico y la endometriosis. Esto se produce por desajustes hormonales, así que lo que hacen estos medicamentos es, al paralizar la producción de hormonas propias y administrar la cantidad que consideramos correcta, corregir de forma total o parcial estas enfermedades. [7]

3.1. Síndrome de ovario poliquístico (PCOS)

El síndrome de ovario poliquístico es la disfunción endocrino-metabólica más común en las mujeres, afectando casi al 10%. Para que te detecten esta enfermedad debes tener dos de las tres siguientes afecciones: hiperandrogenismo, oligoovulación y presentar ovarios poliquísticos.

El hiperandrogenismo consiste en la producción excesiva de andrógenos por parte de la mujer, mayoritariamente en las más jóvenes. Va asociado a una menstruación irregular. Esto lo relaciona con la oligoovulación, que hace referencia a un trastorno en el que se ovulan pocas veces al año.

Al tener más cantidad de andrógenos, se estimula la secreción de LH y crece la sensibilidad a la FSH, aumentando el número de folículos, dando el aspecto que determina su nombre. [8]

Los anticonceptivos orales son la primera opción en el caso de esta patología ya que suprimen la secreción de LH, disminuyendo la biosíntesis de andrógenos ováricos y manteniendo un ciclo reproductivo completo, paliando así también la oligoovulación. [8]

3.2. Endometriosis

La endometriosis es una enfermedad que consiste en la formación de endometrio fuera del útero. El síntoma más común es dolor de forma cíclica y crónica, asociado al ciclo reproductivo. Puede llegar a causar hasta infertilidad.

Las pastillas anticonceptivas se utilizan como tratamiento ya que regulan las cantidades hormonales del organismo, provocando también un control en la formación del endometrio. Crean un estado hipoestrogénico que

suprime la proliferación de las células endometriales. Actúan disminuyendo la menstruación retrógrada e induciendo un estado de pseudoembarazo. [9]

3.2. Miomas

Los miomas uterinos son tumores que se pueden formar en cualquier parte del sistema reproductor femenino. Están formados por tejido muscular, por miocitos. Las pastillas anticonceptivas disminuyen el tamaño de los miomas, no los cura, pero mejora la situación en la que se encuentran.

La progesterona favorece el crecimiento de estos tumores, por lo que, al tomar este medicamento, el organismo deja de producir progesterona propia y comienza a adquirir la cantidad que se administra de forma artificial. Si esta cantidad es más baja el tamaño del mioma disminuye. [10]

4. EFECTOS SECUNDARIOS

La mayoría de los efectos adversos de las PAOC son leves o desaparecen al cambiar de combinación hormonal. Los efectos leves más comunes son dolor de cabeza, náuseas, sensibilidad en los senos, aumento del flujo vaginal y aumento de peso. Los efectos más graves son coágulos de sangre, inflamación del hígado, inflamación del páncreas y ataque al corazón. [7]

4.1. Anticonceptivos y tabaco

Este medicamento aumenta el riesgo de tromboembolismo venoso, lo que provoca algunos de los efectos secundarios anteriores. Al combinarlo con el tabaco, aumenta de forma exponencial el riesgo cardiovascular.

El tabaco en sí es una droga que provoca un aumento en el riesgo de sufrir muchas enfermedades. Algunos de sus efectos son incrementar la frecuencia cardíaca y la tensión arterial. Al unirse esto al efecto de las pastillas anticonceptivas, el riesgo total de padecer problemas cardiovasculares. [11]

5. CONCLUSIONES

Las pastillas anticonceptivas a pesar de ser un medicamento reciente, ha tenido un gran impulso en la industria farmacéutica debido a la repercusión que supone en la sociedad. Hay un gran abanico de posibilidades a la hora de escoger el tratamiento, según las necesidades de cada paciente. En el campo de la farmacia es un tema un poco obsoleto, ya que hay muchas variantes de los progestágenos sintéticos que se añaden; pero ahora han comenzado algunas instituciones a buscar sustitutos del etinilestradiol, para poder continuar con su mejora.

En el campo de la medicina, como hemos visto, es un tratamiento fundamental para paliar síntomas de algunas de las enfermedades más comunes del ciclo reproductivo femenino, aunque hayan ganado su fama por el efecto anticonceptivo.

REFERENCIAS

- [1] S. Christin-Maitre, "History of oral contraceptive drugs and their use worldwide," *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 27, no. 1. Bailliere Tindall Ltd, pp. 3–12, 01-Feb-2013.
- [2] G. Galán Ch., "50 años de la píldora anticonceptiva," *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología*, vol. 75, no. 4. Sociedad Chilena de Obstetricia y Ginecología, pp. 217–220, 2010.
- [3] "Anticoncepción y salud reproductiva en España: crónica de una (r)evolución - Magda Teresa Ruiz Salguero, Anna Cabré Pla, Teresa Castro Martín, Montse Solsona Pairó - Google Libros." [Online]. Available: https://books.google.es/books?id=zWUTRmBzz2IC&pg=PA240&lpg=PA240&dq=legalización+píldora+en+españa+11+octubre+de+1978&source=bl&ots=ai0d4C2ksm&sig=bnGoE-VV1pbisXMed-LtRNntTuQ&hl=es&ei=KSmoToLcNcGw8QPF3MXTDw&sa=X&oi=book_result&ct=result#v=onepage&q=legalización+píldora+en+españa+11+octubre+de+1978&f=false. [Accessed: 31-Dec-2020].
- [4] S. Horvath, C. A. Schreiber, and S. Sonalkar, "Contraception," Jan. 2018.
- [5] "Progestins," Jun. 2020.
- [6] T. M. Plant, "The hypothalamo-pituitary-gonadal axis," *Journal of Endocrinology*, vol. 226, no. 2. BioScientifica Ltd., pp. T41–T54, 2015.
- [7] D. B. Cooper and H. Mahdy, "Oral Contraceptive Pills," Aug. 2020.
- [8] P. Teresa Sir, R. Jessica Preisler, and N. Amiram Magendzo, "Síndrome de ovario poliquístico. diagnóstico y manejo," *Rev. Médica Clínica Las Condes*, vol. 24, no. 5, pp. 818–826, Sep. 2013.
- [9] O. J. Carpinello, L. W. Sundheimer, C. E. Alford, R. N. Taylor, and A. H. DeCherney, "Endometriosis," Oct. 2017.
- [10] N. F. Vlahos, T. D. Theodoridis, and G. A. Partsinevelos, "Myomas and Adenomyosis: Impact on Reproductive Outcome," *BioMed Research International*, vol. 2017. Hindawi Limited, 2017.
- [11] A. M. Allen, A. H. Weinberger, R. R. Wetherill, C. L. Howe, and S. A. McKee, "Oral contraceptives and cigarette smoking: A review of the literature and future directions," *Nicotine and Tobacco Research*, vol. 21, no. 5. Oxford University Press, pp. 592–601, 01-May-2019.
- [12] L. Raber, "Steroid Industry Honored + International Historic Chemical Landmark Acclaims Success of Mexican Steroid Industry and a U.S. Chemist Who Made it Possible," 1999.
- [13] "Estradiol | C18H24O2 - PubChem." [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5757#section=2D-Structure&fullscreen=true>. [Accessed: 31-Dec-2020].
- [14] "Etinilestradiol | C20H24O2 - PubChem." [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5991#section=2D-Structure&fullscreen=true>. [Accessed: 31-Dec-2020].
- [15] "Progesterona | C21H30O2 - PubChem." [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5994#section=2D-Structure&fullscreen=true>. [Accessed: 31-Dec-2020].
- [16] "Levonorgestrel | C21H28O2 - PubChem." [Online]. Available:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13109#section=2D-Structure&fullscreen=true>. [Accessed: 31-Dec-2020].



María Dolores Berdún Reina.
Estudiante de cuarto curso del grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla).

Dengue virus: preparados, listos, ¿ya?

Andrea Aguado Marín

Resumen—El Dengue es una enfermedad vírica propia de las regiones tropicales y subtropicales del planeta. Habitualmente, sus síntomas no son preocupantes, pero una de cada veinte personas que lo padece, sufre complicaciones dado a la vertiente más grave de la enfermedad. A consecuencia de la subida de temperatura global causada por el cambio climático, cada vez es más frecuente la aparición de casos en países fuera del área endémica, problema que va *in crescendo*. ¿Estamos realmente preparados para combatir al dengue a escala global? En este artículo se desarrollan las diferentes propuestas de distintos grupos de investigación que trabajan en la síntesis de nuevos fármacos contra la enfermedad.

Palabras Claves— Dengue, Serotipo, Vacuna, Viricida, Zinc.

1. INTRODUCCIÓN

La llegada de una enfermedad extranjera a un país desarrollado, y más cuando ésta procede de un lugar que no lo es, siempre es causa de una preocupación extrema entre su población. No muy lejos queda el brote de ébola, cuya llegada a territorio americano y europeo hizo saltar todas las alarmas, a la vez que ocupó todas las portadas durante semanas.

Eso sí, si algo se puede sacar como provecho a este tipo de situaciones, es la aceleración con la que se sintetizan nuevos fármacos para la erradicación de estas enfermedades.

El dengue, infección causada por un virus y transmitida a través de un mosquito (normalmente perteneciente a la especie *Aedes aegypti*), es común en las áreas más subtropicales y tropicales de nuestro planeta. Concretamente, está estrechamente relacionado con cuatro serotipos de flavivirus específicos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4. [1].

Hace unos meses, la ONU (Organización de las Naciones Unidas) lanzaba una alerta mundial dado al elevado incremento de brotes de dengue alrededor del mundo. La causa de esto reside en la estrecha relación de la afección con la subida de la temperatura global debida al cambio climático, lo que, según las estadísticas no augura un decrecimiento de su propagación (sino más bien lo contrario) [2]. De esta manera, si bien en 1970 esta enfermedad era propia únicamente de siete países, ahora es endémica en 128, encontrándose casos, actualmente, en países europeos como España. Ante toda esta problemática, se ha propulsado la investigación farmacológica con el fin de combatirla y, al menos, reducir su gravedad.

2. MECANISMO DE ACCIÓN DEL DENGUE VIRUS

El dengue virus es un fago cuya dotación genética es de tipo ssRNA positivo. Para la replicación de esta, cuenta con una proteína viral, NS5, que contiene tanto actividad

metiltransferasa como polimerasa (siendo una enzima con acción RNA polimerasa dependiente de RNA, también conocida como RdRp), siendo ambas cruciales para el proceso de replicación viral [3].

Una vez que este ácido ribonucleico es replicado, el virus ha de realizar un ensamblaje estructural y un empaquetamiento de este material genético dentro de la cápsida. Para ello, depende del procesamiento de una poliproteína viral en tres: proteína C, prM y E. Las tres serán componentes principales de la cápsida, la premembrana y la envoltura del virión, respectivamente. Asimismo, para que se lleve a cabo el ensamblaje de manera efectiva, se requiere de un péptido no estructural vírico conocido como NS2A. Este, también cobra importancia a la hora de realizar el empaquetamiento del material genético. Tanto en un caso como en otro, contribuye en la señalización para el inicio de ambos [4].

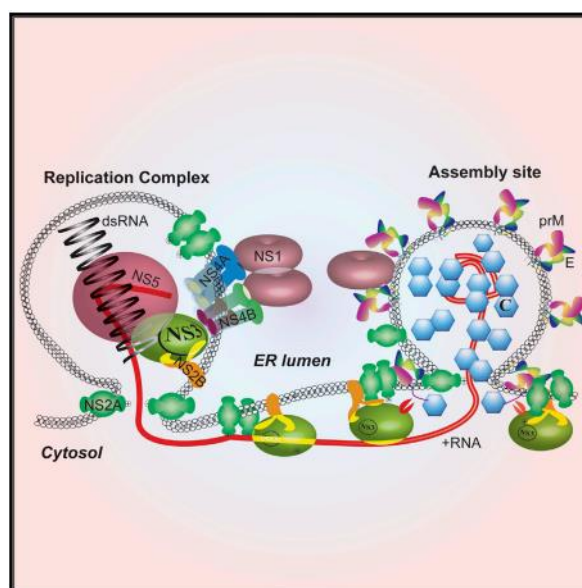


Figura 1: Mecanismo de formación del virión dengue virus [4]

3. SINTOMATOLOGÍA Y TRATAMIENTO ACTUAL

La mayoría de los síntomas pertenecientes a la afección leve de esta enfermedad, son comunes a otras enfermedades, lo que puede generar confusión. Entre ellos encontramos dolores en cabeza, huesos, articulaciones, musculoso ojos; así como vómitos o náuseas. Además, como consecuencia de la infección, pueden surgir sarpullidos en la epidermis del sujeto.

Aún así, 1 de cada 20 individuos que enferma de dengue, desarrolla la vertiente grave de la enfermedad. Esta se caracteriza por aparición de hemorragias graves en el cuerpo del paciente, así como dificultad respiratoria, acumulación de líquidos o extravasación de plasma. Esta complicación es extremadamente compleja, pues resulta ser potencialmente mortal para el individuo que la sufre. Es por ello por lo que reconocer los primeros síntomas de esta infección vírica cobra una importancia mayor, pues esta acción puede evitar las dificultades que derivan a la sintomatología aguda o vertiente grave de la enfermedad [5].



Figura 2: síntomas pertenecientes a la infección leve del virus [6].

Actualmente, no existe ningún medicamento específico contra el dengue. En lo que a su tratamiento se refiere, se recomienda el uso de analgésicos para calmar el dolor, así como se prohíbe el uso de fármacos que contengan aspirina. La causa de esto último reside en que, en caso de hemorragia, no harían otra cosa que incrementar el sangrado, lo que resultaría en un agravamiento de la enfermedad.

La falta de un tratamiento específico, sumado a la relación directa de la afección con el cambio climático, ha hecho saltar todas las alarmas. Se prevee un incremento no controlado de la afección a nivel global, por lo que cada vez corre más prisa el poder sintetizar nuevos fármacos para

poder tratarlo. De esta manera, diferentes grupos de investigación se están haciendo cargo de la causa, avanzando sus investigaciones como se relata a continuación.

4. DENGUE VIRUS Y ZINC

Estudios recientes han demostrado la presencia de un sitio de unión a zinc dentro de la proteína vírica NS5, concretamente en su región polimerasa (RdRp). La existencia de esto último, manifiesta el papel crucial de este microelemento en la regulación del polipéptido y, como consecuencia, en la replicación del material genético del dengue virus. De esta manera, un descenso de la concentración de Zn en el medio, provoca una inhibición del dengue virus.

Para poder provocar las condiciones requeridas en organismos humanos con el fin de crear un fármaco de combate contra la enfermedad, se están llevando a cabo diversas investigaciones con diversos agentes inhibidores de Zinc. Entre ellos, se encuentra el TPEN (abreviatura para N,N,N',N'-tetrakis(2-piridinilmetil)etanodiamina), un agente quelante cuya acción sobre el compuesto de interés lo inactiva.

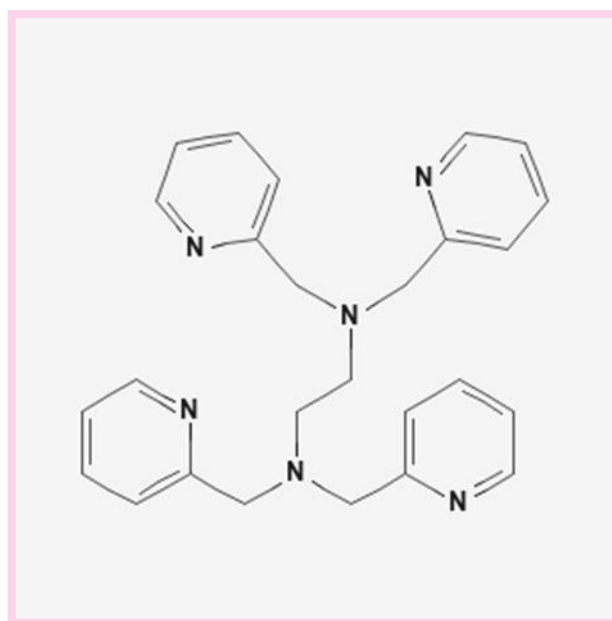


Figura 3: Representación gráfica de la estructura 2D del compuesto químico TPEN [7].

De este modo, ha sido posible demostrar como la quelación del zinc afecta, de forma directa, a los primeros estadios del ciclo de vida del virus debido a la inhibición de su replicación. Asimismo, mediante técnicas como RNA-seq, se ha comprobado como esta técnica también afecta de forma indirecta a este proceso, pues conduce a la activación de una respuesta específica de bloqueo para la replicación de material genético exógeno [8].

5. VIRICIDAS

Numerosos venenos de serpiente, concretamente los pertenecientes a la familia *Viperidae*, contienen proteínas sPLA₂ de tipo gIIA homólogas a las que se encuentran en los seres humanos. La importancia de estas se encuentra en como están implicadas en múltiples procesos biológicos, de manera que este factor hace que puedan intervenir en el ciclo de múltiples virus, ayudando a invalidarlos.

Concretamente se ha evaluado la actividad antiviral de dos formas de la sPLA₂ ofídica: Mt-I (variante catalíticamente activa) y Mt-II (catalíticamente inactiva) contra el virus del dengue. Asimismo, también se comparó la Actividad viricida de la variante activa con la inactiva.

Tras el análisis de resultados, se concluyó en que solo Mt-I es poseyente de actividad viricida contra los diferentes serotipos de DENV. El mecanismo implicado en este efecto está ligado a la actividad de sPLA₂ de serpiente, que ejerce un efecto hidrolítico sobre la envoltura del virus que la proteína humana no consigue. De esta manera, esta proteína consigue acabar con el dengue virus [9].

Dado que las proteínas no son buenos candidatos para ser usados como fármacos (se absorben mal a través de la membrana celular y son metabolizadas muy rápidamente, entre otras razones), se está tratando de diseñar peptidomiméticos que reemplacen a Mt-I. De este modo, la industria farmacéutica comienza a testar la síntesis de fármacos antivirales contra el dengue virus a partir de esta proteína.

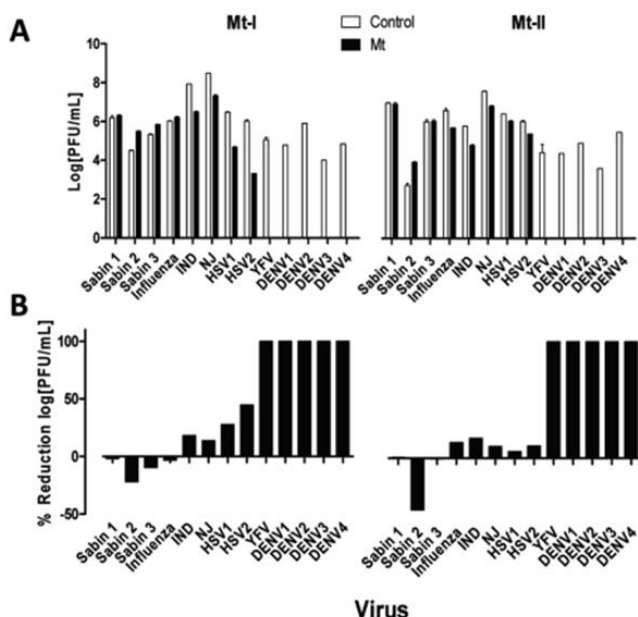


Figura 4: Acción antiviral de Mt-I en diferentes tipos de virus [9].

6. UNA VACUNA CONTRA LA INFECCIÓN

6.1. Mecanismo de acción

CYD-TDV, la única vacuna que se ha llegado a aprobar para desarrollar resistencia a este agente, hace uso de dengue virus atenuados para conseguir esta meta. Igualmente, entre sus características cabe a destacar su tetravalencia, dado a que el dengue es provocado por cuatro serotipos del flavivirus causante: DENV1, DENV2, DENV3 y DENV4.

CYD-TDV: consideraciones clínicas para la prevención del virus del dengue

Refuerza la respuesta inmunológica provocada por todos los serotipos del dengue virus, con altas tasas de seropositividad para los mismos después de cada dosis.

Proporciona una protección eficaz contra la disfunción de cuerdas vocales (VCD) en niños, con una eficacia también alta en adultos

A su vez, proporciona una protección eficaz ante una infección severa de dengue y su consecuente hospitalización

Se recomienda que aquellos países con una alta tasa de afectados por el virus introduzcan CYD-TDV como parte de su estrategia para prevenir la enfermedad y reducirla en estos mismos

Tabla 1: Argumentos a favor del uso de esta vacuna en los países endémicos para el virus [10].

Los flavivirus atenuados, una vez llegan a infectar a la célula huésped, comienzan a sintetizar sus proteínas prM y E, componentes de la pre-membrana y envoltura del virión. Al ser atenuados, estos virus no producirán la enfermedad, pero sí las proteínas mencionadas. De este modo, el organismo generará anticuerpos contra el virus por medio del reconocimiento de estas estructuras, por lo que estará ya preparado para futuras infecciones [10].

CYD-TDV es una vacuna liofilizada. De esta manera, para su síntesis, virus previamente atenuados son congelados para sufrir posteriormente una sublimación, con el fin de separar el agua del producto. Como consecuencia, se consigue obtener el resultado deseado sin pasar por el estado líquido [11]. Esta característica del fármaco permite una conservación y estabilidad del mismo sin necesidad de adición de adyuvantes o conservantes (que provocan que su efectividad disminuya, algo que se ha comprobado experimentalmente) [11].

6.2. Selectividad en la población

CYD-TDV se aplica desde hace cuatro años en países de Asia y América donde la infección causada por el dengue virus se desarrolla de manera habitual. Aún así, su administración esta sujeta a un rango de edad, comprendido entre los 9-45 años, por lo que deja a un gran sector de la población desprotegido contra el mismo. Asimismo, esta es realizada en tres dosis, entre las cuales ha de

hablar un tiempo ajustado de seis meses.

Aún así, esta vacuna solo puede ser aplicada en aquellos individuos que hayan sido infectados previamente por alguno de los serotipos del virus. La razón de esto reside en que estos sujetos presentan una alta probabilidad de desarrollar la infección de forma severa como consecuencia a la vacunación. Esta contraindicación se debe a que estos no tienen preformada defensa alguna contra la enfermedad. De esta manera, al ser introducidos los virus en el organismo de dichos individuos, aún siendo estos atenuados, no cuentan con una respuesta inmune suficiente a la virulencia de los agentes exógenos (**tabla 2**) [6].

Condiciones de vacunación del individuo **Dengue severo tras la vacunación (%)**

Infección previa por dengue virus **0,37%**

Sin infección previa **48,32%**

Tabla 2: Desarrollo de dengue severo tras la vacunación en una población 18265 individuos, todos comprendidos entre los 9 a los 16 años de edad [12].

7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

Pese a que la investigación para encontrar fármacos efectivos contra este virus esté en desarrollo, no se moviliza lo suficiente rápido como para lograr frenar su avance. Cada vez es más común el desarrollo de plagas de esta enfermedad en los diferentes países donde es endémica, así como se siguen sumando cifras a la cantidad de fallecidos a su costa.

Paralelamente, la temperatura global continúa elevándose sin freno alguno. Esto tendrá como consecuencia el establecimiento del medio óptimo para el desarrollo del vector en nuevas zonas pertenecientes a territorio norteamericano y europeo. De esta manera, finalmente, el virus del dengue será usual en países desarrollados como Estados Unidos, España e Italia.

La industria farmacéutica y los diferentes proyectos dentro de ella requieren de una financiación para poder continuar desarrollándose. De este modo, quizá la llegada de la enfermedad a países desarrollados sea el impulso necesario para que se comience a invertir en investigaciones relacionadas con la erradicación del mismo. Aún así, si los hechos se acontecen del modo redactado, ya se estará luchando contra una amenaza real, en lugar de prevenirla.

Distintas organizaciones mundiales como la OMS (Organización Mundial de la Salud) o la ONU (Organización de las Naciones Unidas), llevan advirtiendo de este peligro desde años atrás. Parece que al ser humano le gusta trabajar bajo presión, y este problema no es más que una muestra de ello.

REFERENCIAS

- [1] "Travel-Associated Dengue Surveillance --- United States, 2006--2008." [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5923a3.htm>. [Accessed: 16-Dec-2019].
- [2] "El cambio climático y la salud humana." [Online]. Available: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84325101>. [Accessed: 18-Dec-2019].
- [3] V. J. Klema *et al.*, "Dengue Virus Nonstructural Protein 5 (NS5) Assembles into a Dimer with a Unique Methyltransferase and Polymerase Interface," *PLoS Pathog.*, vol. 12, no. 2, Feb. 2016.
- [4] X. Xie *et al.*, "Dengue NS2A Protein Orchestrates Virus Assembly," *Cell Host Microbe*, vol. 26, no. 5, pp. 606-622.e8, Nov. 2019.
- [5] "Dengue y dengue grave." [Online]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. [Accessed: 18-Dec-2019].
- [6] "Síntomas y tratamiento | Dengue | CDC." [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/dengue/es/symptoms/index.html>. [Accessed: 18-Dec-2019].
- [7] T. Fujihara, M. Saito, and A. Nagasawa, "N,N,N',N'-Tetrakis(2-pyridylmethyl)-1,2-diaminoethane: A multidentate ligand," *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online*, vol. 60, no. 2, Feb. 2004.
- [8] M. Kar *et al.*, "Zinc Chelation Specifically Inhibits Early Stages of Dengue Virus Replication by Activation of NF- κ B and Induction of Antiviral Response in Epithelial Cells," *Front. Immunol.*, vol. 10, Oct. 2019.
- [9] H. Brenes, G. D. Loría, and B. Lomonte, "Potent virucidal activity against Flaviviridae of a group IIA phospholipase A2 isolated from the venom of *Bothrops asper*," *Biologicals*, Dec. 2019.
- [10] L. J. Scott, "Tetravalent Dengue Vaccine: A Review in the Prevention of Dengue Disease," *Drugs*, vol. 76, no. 13, pp. 1301-1312, Sep. 2016.
- [11] "LIOFILIZACIÓN."
- [12] "Dengvaxia (Dengue Tetravalent Vaccine, Live for Injection): Uses, Dosage, Side Effects, Interactions, Warning." [Online]. Available: <https://www.rxlist.com/dengvaxia-drug.htm#indications>. [Accessed: 17-Dec-2019].



Andrea Aguado Marín es estudiante del tercer año del Grado en Biotecnología, en la Universidad Pablo de Olavide. Actualmente, compagina sus estudios con su plaza como alumna interna, perteneciendo al departamento de microbiología del Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD).

Papel de la microbiota intestinal en la inmunidad

María Escaño Maestre y Elena García Díaz

Resumen—El tracto gastrointestinal alberga una comunidad microbiana altamente compleja que se comunica activamente con el sistema inmune afectando significativamente la salud del huésped tanto de forma positiva como de forma perjudicial al generarse una alteración en el equilibrio que compone la microbiota intestinal, ya sea por cambios medioambientales, mala alimentación, uso inadecuado de antibióticos, entre otros. Estos últimos años ha aumentado el número de investigaciones sobre esta cuestión, produciéndose nuevas terapias y tratamientos para aquellos pacientes que padezcan de enfermedades relacionadas u ocasionadas debido al desequilibrio de la microbiota intestinal. Actualmente, se está cuestionando si el eje intestino-pulmón está altamente relacionado con la sintomatología que presentan los pacientes de la COVID-19, pudiendo aclarar las, todavía presentes, incógnitas de este virus.

Palabras Claves— Microbiota, inmunomodulación, inmunidad innata, inmunidad adaptativa, disbiosis.

1. INTRODUCCIÓN

Desde una perspectiva inmunológica, los microorganismos son vistos como patógenos por el sistema inmune del huésped que los reconoce y los elimina. Sin embargo, la mayoría de las bacterias intestinales no son patógenas y, cohabitan con los enterocitos en una relación simbiótica. Los comensales intestinales ayudan predominantemente en el metabolismo de nutrientes y fármacos, la prevención de la colonización de microorganismos patógenos y en la función de barrera intestinal.

La microflora intestinal colectiva humana está compuesta por más de 35000 especies bacterianas lo cual supone más de 10 millones de genes no redundantes en el microbioma humano.

El interés en la microbiota intestinal ha aumentado en los últimos años dentro de la comunidad científica pues los microbios intestinales han sido asociados con una gran variedad de enfermedades humanas desde enfermedades inflamatorias intestinales, el síndrome del intestino irritable y enfermedades metabólicas como la obesidad y la diabetes hasta enfermedades que afectan al neurodesarrollo.

Gracias a las nuevas tecnologías ómicas, ha aumentado el número de investigaciones para el tratamiento de estas enfermedades relacionadas con el desequilibrio de la microbiota, generando así, nuevas terapias.

2. MICROBIOTA INTESTINAL NORMAL

2.1. Composición

La microbiota intestinal saludable está constituida principalmente por los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes*,

seguidos de los filos *Actinobacteria* y *Verrucomicrobia*. espaciales en la distribución a nivel de género y más allá.

Viajando desde el esófago al recto, hay una diferencia señalada en diversidad y número de bacterias que van desde 101 por gramo de contenido en el esófago y el estómago a 1012 por gramo de contenido en el colon y el intestino.

La figura 1 representa la diversidad temporal de la microbiota intestinal desde el esófago hasta el colon.

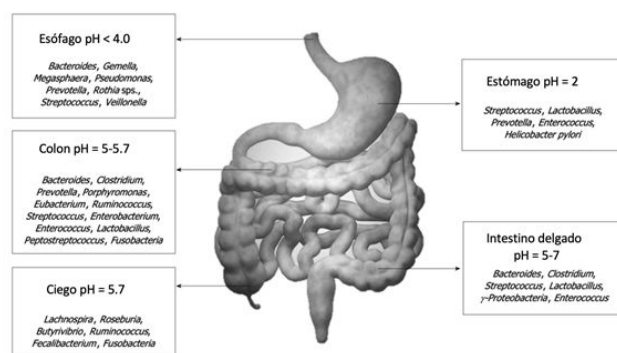


Fig 1. Distribución normal de la flora intestinal

2.2. Géneros Dominantes en las Distintas Partes

Streptococcus es el género dominante en el esófago, duodeno y yeyuno mientras que en el estómago es *Helicobacter*. *Helicobacter* determina todo el entorno microbiano de la flora gástrica, es decir, cuando *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) habita el estómago como comensal, hay una rica diversidad constituida por otros géneros dominantes como *Streptococcus* (más dominante), *Prevotella*, *Veillonella* y *Rothia* [1]. Esta diversidad disminuye cuando *H. pylori* adquiere un fenotipo patógeno.

Los filos predominantes en el intestino grueso son *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. En el intestino grueso se encuentran más del 70% de todos los microbios que habitan en el cuerpo por ello cuando se habla de la flora intestinal en el contexto de enfermedad generalmente se refiere a la flora colónica.

El colon humano alberga también patógenos primarios como *Caampylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholera* y *Escherichia coli* (*E. coli*), y *Bacteroides fragilis*, pero en una abundancia menor [1].

La baja abundancia del filo *Proteobacteria* junto con la alta riqueza de géneros característicos como *Bacteroides*, *Prevotella* y *Ruminococcus* caracterizan una microbiota intestinal saludable[1].

Además de la diferencia longitudinal desde esófago hasta intestino grueso previamente comentada, existe una diferencia axial desde el lumen hasta la superficie mucosa del intestino. Mientras que *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* y *Ruminococcus* predominan en el lumen, en la mucosa intestinal predominan los géneros *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Akkermansia* [1].

Por otra parte la flora intestinal puede clasificarse en tres tipos de enterotipos, combinaciones de diferentes tipos y cantidades de bacterias. En el enterotipo 1 hay una gran abundancia de *Bacteroides*, se trata de bacterias que tienen un amplio potencial sacarolítico para lo cual presentan genes que codifican para enzimas como proteasas, hexoaminidasas y galactosidasas y les permiten obtener energía a partir de carbohidratos y proteínas. En el enterotipo 2 predomina *Prevotella* que se encarga de degradar las glicoproteínas mucinas que recubren la capa mucosa intestinal. También llevan a cabo la síntesis de timina y folato. El enterotipo 3 está constituido por *Ruminococcus* que está relacionado con la degradación de mucina y el transporte de azúcares a través de la membrana.

2.3. Funciones

Entre las principales funciones de la microbiota intestinal destacan el metabolismo de nutrientes, el metabolismo de xenobióticos y drogas, la protección antimicrobiana, la inmunomodulación y la integridad de la barrera intestinal y la estructura del tracto gastrointestinal.

2.3.1. Inmunomodulación

La microbiota intestinal contribuye a la inmunomodulación del intestino en conjunto con los sistemas inmunes innatos y adaptativos.

El sistema inmune adaptativo, formado por linfocitos T y B, interactúa con esta comunidad microbiana para prevenir la invasión microbiana y la patogénesis y las respuestas inmunes perjudiciales hacia ellos mismos.

Dentro del intestino hay una gran cantidad de antígenos dietéticos y microbianos que pueden estimular continuamente los linfocitos intestinales. Esta

estimulación constante promueve procesos inmunes para mantener una interacción beneficiosa con la microbiota, pero también puede promover respuestas frente a patógenos.

Las células presentadoras de antígenos (APCs) se encuentran a lo largo de todo el intestino pero se concentran en la lámina propia y en los tejidos linfáticos, placas de Peyer y los ganglios linfáticos mesentéricos. Las principales APCs son las células dendríticas (DCs) que regulan las respuestas inmunes hacia la microbiota. Las poblaciones de DCs más importantes en el intestino son CD103+CD11b-, CD103+CD11b+ y CD103-CD11b+CX3CR1+ [2].

La mucosa intestinal y la capa de células epiteliales separan físicamente la mayoría de los microbios comensales y evitan la libre interacción de estos con las DCs en la lámina propia y las placas de Peyer. Las DCs CD103+ adquieren antígenos a través de: células epiteliales especializadas llamadas células M, del transporte de antígenos a través de las células caliciformes, de microbios invasores, e incluso de CD103-CD11b+CX3CR1+ [2]. Estas células dendríticas expresan constitutivamente altos niveles del receptor de quimioquinas CCR7 que les permite transportar antígenos microbianos o dietéticos a los ganglios linfáticos mesentéricos para la activación de células T.

Las células CD103-CD11b+CX3CR1+ pueden captar directamente microbios intestinales enviando proyecciones celulares a través de la capa celular epitelial [2]. Estas células dendríticas no son migratorias en condiciones normales ni expresan CCR7, pero cuando la microbiota está alterada se produce la sobreexpresión de CCR7 y el desplazamiento de estas a los ganglios linfáticos mesentéricos.

Estas poblaciones de células son necesarias para inducir diferentes respuestas dependientes de células T. Las DCs CD103+ inducen la diferenciación de células T reguladoras (Treg) mediante la secreción de moléculas como ácido retinoico y TGF- β . Las CD103+CD11b- son necesarias para las respuestas dependientes de Th1, mientras que las CD103+CD11b+ para las respuestas Th17 [2]. Las células dendríticas CD103-CD11b+CX3CR1+ son capaces de inducir respuestas tanto de Th1 como de Th17 y son necesarias para respuestas de Th17 específicos de bacterias filamentosas segmentadas (SFB).

Las células linfoides innatas de tipo 3 que expresan CCR6 (CCR6 ILC3) son APCs que tienen un papel importante en la homeostasis intestinal inmunológica mediante la presentación de antígenos intestinales a través de sus MHC-II a células T efectoras induciendo su apoptosis en lugar de proliferación [2]. Por lo tanto, las células CCR6 ILC3 presentan una función inmunosupresora en el intestino.

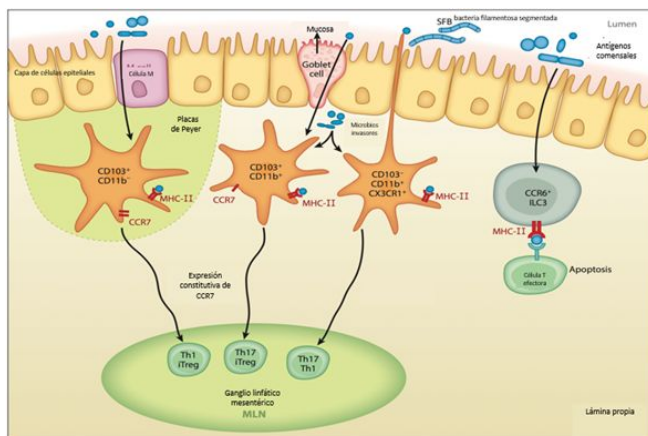


Fig 2. Células que presentan antígenos importantes en el intestino.

Una compleja combinación de señales procedentes de las células dendríticas, los microbios intestinales y las células epiteliales intestinales determina las respuestas de las células T. Los microbios comensales inducen muchas de las células T específicas de antígenos, entre ellas las células Th17. Esta población de células es activada específicamente por SFBs presentadas por las DCs a través de sus MHC II provocando la liberación de citoquinas, IL-17 e IL-22, que a su vez desencadenan la secreción de inmunoglobulinas A (IgAs) en la mucosa por parte de las células plasmáticas. Por otro lado, los microbios comensales inducen la activación de los linfocitos Tregs que desempeñan un papel importante en la prevención de la inflamación patológica.

Comensales como SFB están relacionados con enfermedades autoinmunes, se producen respuestas inapropiadas contra autoantígenos, debido a la presencia de epítomos en los organismos comensales que imitan a autopéptidos como es el caso de péptidos presentes en integrasa del género *Bacteroides*.

Además, los microbios comensales expresan y secretan moléculas capaces de degradar citoquinas inflamatorias como mecanismo para mantener la tolerancia en el intestino; es el caso de *Helicobacter hepaticus* que puede ser un comensal de la microbiota tranquilo pero si el hospedador presenta bajos niveles de citoquina anti-inflamatoria IL-10 produce un gran polisacárido que induce la liberación de IL-10 sin su correspondiente incremento de citoquinas proinflamatorias provocando respuestas anti-inflamatorias.

Sin embargo, no hablamos de moléculas específicas de estos organismos únicamente sino que también moléculas comunes como ATP capaz de desencadenar respuestas dependientes de Th17 limitando la acción de anticuerpos en el hospedador que a su vez afectan a la composición de la microbiota intestinal. Por ejemplo, estos microbios intestinales, entre ellos la levadura *Saccharomyces boulardii*, producen proteasas que destruyen IgAs, citoquinas pro-inflamatorias y otras proteínas del hospedador.

Los microbios comensales metabolizan componentes de la dieta del hospedador produciendo metabolitos: ácidos grasos de cadena corta, aminoácidos como triptófano y arginina, flavonoides y poliaminas, que inducen respuestas dependientes de Treg disminuyendo la inflamación.

3. TERAPIAS

La microbiota intestinal se comporta adecuadamente gracias a una correcta homeostasis, pero cuando se rompe este equilibrio ya sea por mala alimentación, estrés o uso inadecuado de antibióticos, se genera la llamada disbiosis. La disbiosis puede presentarse como una pérdida de diversidad microbiana, pérdida de ciertos microorganismos beneficiosos o aumento de microorganismos patógenos [3].

La alteración de la microbiota desencadena el desarrollo de enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias crónicas, disfunción metabólica e incluso cáncer. Actualmente, para solventar o mejorar estas afecciones se realizan, a continuación, las siguientes terapias.

3.1. Dieta

Una dieta personalizada, como por ejemplo, que sea rica en grasas fomenta el crecimiento específico de una microbiota intestinal proinflamatoria cambiando así la permeabilidad intestinal y por consiguiente promoviendo un aumento de los lipopolisacáridos circulantes los cuales son beneficiosos ya que pueden regular la respuesta inmune.

3.2. Prebióticos y probióticos

Los prebióticos son alimentos que estimulan el crecimiento de bacterias beneficiosas, los cuales son administrados normalmente junto a una dieta específica para la mejora de la microbiota intestinal.

En cambio, los probióticos son cepas microbianas vivas que proporcionan beneficios para la salud ya que pueden modular y recuperar el equilibrio de la microbiota intestinal gracias a sus actividades antimicrobianas y antiinflamatorias. Pero el uso excesivo o inadecuado de estos pueden causar bacteriemia, sepsis o endocarditis en pacientes con inflamaciones graves en órganos digestivos, por lo que es necesario usar cantidades específicas [4].

3.2. Trasplante fecal

Es la terapia basada en el injerto de suspensión homogeneizada de heces de un paciente sano con el objetivo de curar una enfermedad específica.

Actualmente, se realiza trasplante alogénico aunque suelen ser parientes cercanos para obtener un ambiente microecológico parecido al del receptor. También se

puede obtener el material mediante un banco de microbiota fecal centralizado.

El emparejamiento del enterotipo bacteriano entre donante y receptor es realizado mediante análisis metagenómico.

El trasplante fecal es administrado por sonda nasogástrica o nasoduodenal, enema o colonoscopia.

Esta terapia se está realizando en cánceres del sistema digestivo aunque recientemente se está probando en melanomas y cáncer de mama. A continuación vemos algunos ejemplos donde se aplica este tipo de terapia:

- **Infección por *Clostridium difficile***: Es la causa más común de diarrea asociada a antibióticos. Este tipo de infección es bastante frecuente en pacientes con cáncer ya que presentan disbiosis intestinal ya sea por recibir quimioterapia, inmunodeficiencia o por el uso prolongado de antibióticos de amplio espectro.

Se ha demostrado que el uso del trasplante fecal tiene alrededor de un 90% de eficacia, además de restaurar la diversidad microbiana y sus metabolitos.

- **Cáncer de páncreas**: Se ha encontrado una desregulación en la microbiota intestinal cuando está presente este tipo de cáncer, habiendo un aumento de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis* y un descenso de Fusobacterias y del género *Leptotrichia* [5].

Hay evidencias que el tratamiento basado en el trasplante fecal puede controlar el cáncer de páncreas.

- **Hígado**: Debido a la conexión de la vena porta hepática con el tracto gastrointestinal, hace que la microbiota intestinal libere toxinas o productos bacterianos como ácido desoxicólico. Por ello muchas de las enfermedades hepáticas están asociadas a las disbiosis intestinales debido a este eje intestino-hígado.

El trasplante fecal ha sido beneficioso tanto para mejorar lesiones hepáticas como para mejorar la hepatitis B crónica.

Los resultados anteriores revelan que este tipo de terapia para cánceres relacionados con la disbiosis intestinal u otras complicaciones, tiene un gran potencial y eficacia siendo así posible mejorar la eficacia de la inmunoterapia.

4. LA MICROBIOTA INTESTINAL Y EL SARS-CoV-2

Sabemos que el SARS-CoV-2 genera principalmente infección pulmonar debido a la unión de sus glicoproteínas S con los receptores ACE2 que se encuentran en la membrana de las células epiteliales alveolares. Además, los enterocitos del intestino delgado también muestran receptores ACE2, pudiéndose

relacionar con el hecho de que algunos pacientes presentan diarrea y también se ha detectado el virus en las heces de algunos pacientes. Estos eventos apuntan hacia una posible afectación en el eje intestino-pulmón por la microbiota intestinal [6].

Los metabolitos y estructuras microbianas intestinales pueden circular a través de la sangre y actuar sobre los pulmones, siendo demostrado que si existen cambios en la composición de la microbiota está asociado a infecciones respiratorias.

Además, este eje es bidireccional, es decir, si se produce una inflamación en los pulmones puede afectar a la microbiota intestinal.

Si ocurre un desequilibrio general de la microbiota intestinal sucede la llamada disbiosis intestinal la cual presenta personas de edad avanzada, inmunodeprimidos o diabéticos de tipo 2. Todos ellos son personas de alto riesgo para el SARS-CoV-2, dando ejemplo como la disbiosis intestinal influye a la manifestación clínica del COVID-19.

Por tanto, sabemos que hay una relación entre el SARS-CoV-2 y la microbiota intestinal, pudiendo esta modular en el caso de los pacientes que contengan disbiosis para mejorar la respuesta inmune general. Una de las posibles terapias es la dieta personalizada que incluya prebióticos y probióticos.

5. CONCLUSIONES

La microbiota intestinal saludable está formada esencialmente por *Firmicutes* y *Bacteroidetes* aunque esta varía temporal y espacialmente. Entre las funciones más importantes que desempeña están el metabolismo de xenobióticos y drogas, la inmunomodulación, la protección antimicrobiana y la integridad de la barrera intestinal y la estructura del tracto gastrointestinal.

Cabe destacar su papel en la inmunomodulación provocando la estimulación del sistema inmunológico del hospedador con el objeto promover respuestas frente a patógenos mediante la producción de inmunoglobulinas A o la activación de linfocitos T reguladores para lo cual es muy importante la intervención de las células presentadoras de antígenos. Gracias a esta relevante función ha sido posible el descubrimiento de su relación con otras enfermedades provocando así nuevas posibilidades de tratamiento e incluso generando hipótesis, que no existían, en relación a infecciones víricas como las que nos atañen actualmente.

REFERENCIAS

- [1] Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar Reddy D. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015 Aug 7;21(29):8787-803. doi: 10.3748/wjg.v21.i29.8787. PMID: 26269668; PMCID: PMC4528021.
- [2] Ost KS, Round JL. Communication Between the Microbiota and Mammalian Immunity. *Annu Rev Microbiol*. 2018 Sep

- 8;72:399-422. doi: 10.1146/annurev-micro-090817-062307. Epub 2018 Jun 21. PMID: 29927706; PMCID: PMC7294967.
- [3] Tiffany CR, Bäumlér AJ. Dysbiosis: from fiction to function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2019 Nov 1;317(5):G602-G608. doi: 10.1152/ajpgi.00230.2019. Epub 2019 Sep 11. PMID: 31509433; PMCID: PMC6879887.
- [4] Kim SK, Guevarra RB, Kim YT, Kwon J, Kim H, Cho JH, Kim HB, Lee JH. Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2019;29:1335-1340. <https://doi.org/10.4014/jmb.1906.06064>
- [5] Chen D, Wu J, Jin D, Wang B, Cao H. Fecal microbiota transplantation in cancer management: Current status and perspectives. *Int J Cancer.* 2019 Oct 15;145(8):2021-2031. doi: 10.1002/ijc.32003. Epub 2018 Dec 30. PMID: 30458058; PMCID: PMC6767494.
- [6] Dhar D, Mohanty A. Gut microbiota and Covid-19- possible link and implications. *Virus Res.* 2020 Aug;285:198018. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198018. Epub 2020 May 13. PMID: 32430279; PMCID: PMC7217790.



María Escaño Maestre, estudiante de cuarto curso del grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.



Elena García Díaz, estudiante de cuarto curso del grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

La fibrosis quística: etiología, cuadro clínico y tratamiento

Ariadna Crespo González y Teresa Porras García de Blanes

Resumen—La fibrosis quística es una enfermedad genética, comúnmente conocida por las complicaciones respiratorias, provocada por mutaciones en el gen *cftr*, que codifica para un canal de cloro y bicarbonato presente en epitelios secretores. Sin embargo, esta enfermedad afecta a muchos otros órganos, llegando a producir problemas de malnutrición e infertilidad en muchos pacientes. Se proponen varios tipos de tratamientos para la fibrosis quística, desde fármacos que actúan sobre la propia proteína hasta métodos más novedosos como la terapia génica y la edición del genoma, los cuales requieren aún de investigación y más estudios que aseguren la máxima eficacia y seguridad.

Palabras Claves— Fibrosis quística, CFTR, Cloruro de Sodio, Pseudomonas, EPOC

1. INTRODUCCIÓN

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva grave que se caracteriza por una afectación de todas las glándulas exocrinas del organismo, de ahí que su cuadro clínico sea muy amplio. Su fenotipo más conocido es el de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), aunque también puede presentar pancreatitis exocrina, secreción anormal de las glándulas sudoríparas y disfunción urogenital.

El impacto de esta enfermedad varía de unos países a otros dependiendo de la etnia predominante de ese país. La incidencia en la población europea varía de 1/1400 a 1/3500 nacidos, presentándose en una frecuencia mucho más baja en los continentes asiático y africano [1].

En este artículo se revisará la proteína CFTR y los tipos de mutaciones que provocan la FQ. Además, se dará una visión general de los tipos de fenotipos que puede presentar un paciente y los posibles tratamientos.

2. PROTEÍNA CFTR Y MUTACIONES

2.1. Estructura

El regulador de la conductancia transmembrana en fibrosis quística (CFTR) es una glicoproteína de 1480 aminoácidos y un peso molecular de 170 KDa. Está integrado en la superfamilia de transportadores ABC (ATP-Binding Cassette) y presenta 5 dominios: 2 dominios transmembrana (TM1, TM2) constituidos por 6 alfa hélices cada uno, 2 dominios de unión nucleótido citoplasmático (NBD1, NBD2) y un dominio regulador R (fig.1). Este último es fundamental para la activación de CFTR, gracias a su fosforilación por la proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA); por otra parte, la hidrólisis de ATP en los dominios NBD1 y NBD2 será fundamental para la apertura y cierre del canal, provocándose la apertura cuando ocurre la dimerización de ambos dominios [2].

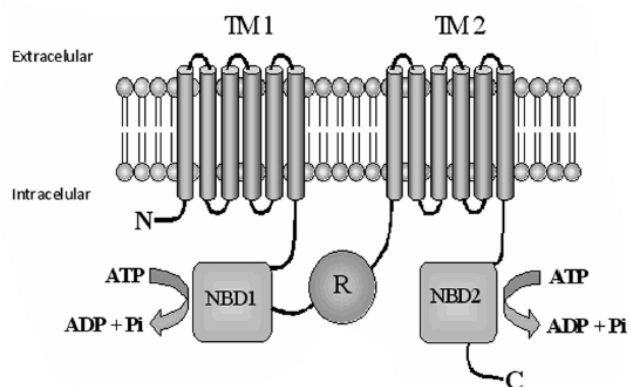


Fig. 1. Estructura del canal CFTR. En la figura se observan los dos dominios transmembrana, los dominios de unión de ATP y el dominio regulador [3].

2.2. Funciones del canal

La proteína CFTR se expresa en el lumen de epitelios secretores y de absorción como son las vías aéreas, el páncreas exocrino, la vía biliar, el aparato genital masculino, el intestino y las glándulas sudoríparas. Su función principal consiste en el transporte de cloruro a la porción luminal de las membranas. Además, interviene en la regulación de otros canales de transporte iónico como el canal de Na^+ epitelial (ENaC) y participa en la regulación del pH extracelular transportando bicarbonato [4].

2.3. Mutaciones en el CFTR

El gen *cftr* está localizado en el cromosoma 7 (posición 7q31) con una longitud de 250 kb y constituido por 27 exones. Se han detectado más de 1900 mutaciones en el gen que afectan el plegamiento, la localización o la actividad del canal. En la actualidad, se clasifican las posibles mutaciones del gen en seis tipos, en función del mecanismo por el que causan la enfermedad [5]:

- Clase I: mutaciones que generan un codón de parada prematuro en el ARN mensajero originando una proteína truncada no funcional. Ejemplo: Gly542X.
- Clase II: mutaciones que dan lugar a una proteína mal plegada y que se elimina en el retículo endo-

plásmico antes de llegar a la superficie de la célula. En este grupo se encuentra la mutación más común, $\Delta F508$, basada en la eliminación de un residuo de fenilalanina en la posición 508 dentro del dominio.

- Clase III: mutaciones que afectan a la activación del canal. Las proteínas consiguen plegarse y llegar a la superficie celular, pero no funcionan de manera adecuada.
- Clase IV: mutaciones que provocan una disminución de la conductibilidad de iones a través del canal.
- Clase V: se codifican menos cantidad de proteína, lo que resulta en un menor número de canales CFTR insertos en membrana. Presentan función, pero a un nivel menor de lo normal.
- Clase VI: mutaciones que afectan a la estabilidad de la proteína, acortando su vida media y que pueden provocar desregulación de los canales vecinos al CFTR.

3. CUADRO CLÍNICO

3.1. Fenotipo pulmonar

El moco es una sustancia viscosa que hidrata y protege el revestimiento de las vías aéreas pero en la FQ, el moco es anormalmente grueso y pegajoso. Este moco puede bloquear las vías aéreas, derivando a problemas severos de respiración e infecciones bacterianas en los pulmones por *Pseudomonas aeruginosa*.

Puesto que las condiciones de hidratación de este moco dependen de las concentraciones de Cl^- , Na^+ , HCO_3^- y agua, la actividad del canal CFTR resulta fundamental. En condiciones no patológicas, el canal CFTR permite transportar cloruro y bicarbonato desde el interior celular hacia el moco, provocando que también salga Na^+ y agua, dando lugar a la hidratación del mismo. El bicarbonato favorece que el lumen tenga un pH básico, que facilita la activación de la proteína SPLUNC1. Esta proteína bloquea el canal de reentrada de sodio ENaC, de forma que no se favorece ni la entrada de sodio ni la entrada de agua hacia el interior celular, por lo que el moco sigue teniendo una viscosidad adecuada [6].

La FQ se caracteriza por la alteración del canal CFTR por lo que, en condiciones patológicas, no se ve favorecida la salida de cloruro ni bicarbonato. Tampoco se produce la salida de sodio ni la de agua, por lo que el moco se vuelve aún más viscoso. Al no salir bicarbonato, el pH se acidifica y la proteína PLUNC no se activa (fig.2). Como consecuencia, se produce la reentrada de Na^+ y agua desde el moco hacia las células, acentuando aún más la deshidratación del moco.

3.2. Fenotipo pancreático

La FQ en el páncreas exocrino se caracteriza por la obstrucción de los conductos pancreáticos debido a que el moco es más espeso. Además, el fallo en la secreción de bicarbonato generará un problema en la neutralización del quimo ácido procedente del estómago, impidiendo la correcta activación de las enzimas pancreáticas [7]. Estos dos hechos (obstrucción y no neutralización) impiden la llegada de las enzimas pancreáticas necesarias para la

digestión (lipasa, amilasa, tripsina) así como su activación en el duodeno, generando un síndrome de malabsorción y malnutrición.

Dado a que se genera una obstrucción de los conductos pancreáticos se puede derivar una pancreatitis crónica que afecte al páncreas endocrino. Así pues, se desencadena una bajada de la secreción de insulina que puede causar una forma de diabetes conocida como diabetes mellitus relacionada con fibrosis quística (CFRDM): en alrededor del 35% de los casos de FQ que llegan a la edad adolescente y adulta se produce esta complicación [8].

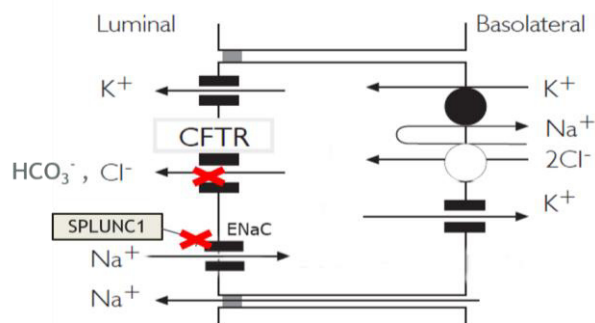


Fig. 2. Funcionamiento del canal CFTR en condiciones de FQ. Figura adaptada [9].

3.3. Fenotipo intestinal

A nivel intestinal, se encuentran las glándulas de Brunner, que participan en la neutralización del quimo ácido mediante la secreción de bicarbonato mediada por el canal CFTR. Sin esta neutralización, las enzimas digestivas no funcionan efectivamente y, además, la ausencia de un fluido que hidrate la luz intestinal puede afectar al entorno luminal. Por otro lado, la acumulación de moco anormal causa la producción de un meconio anormalmente denso que puede derivar, en neonatos, en un síndrome conocido como fleo meconial o en un prolapso rectal [10].

3.4. Fenotipo genital

Los vasos deferentes son muy sensibles a los fallos del canal CFTR, de ahí que el 95% de los varones con FQ sean infértiles [11]: en la FQ se produce un bloqueo de los vasos deferentes por la formación de un moco más espeso y ácido, dando lugar a la azoospermia (ausencia de espermatozoides en semen). En las mujeres, la infertilidad se produce por espesamiento del moco cervical, lo que conlleva problemas en la fecundación. Sin embargo, la repercusión es menor en este caso y, por tanto, el porcentaje de mujeres fértiles con FQ es mayor [12].

3.5. Fenotipo en glándulas sudoríparas

En condiciones no patológicas, el canal CFTR favorece la reentrada de cloruro a las células epiteliales de la glándula y, por consiguiente, la reabsorción de sodio para equilibrar las cargas eléctricas. Sin embargo, cuando la función del CFTR es defectuosa o no está presente como en la fibrosis quística, el cloruro del lumen no se reabsorbe, dificultando la reabsorción de sodio. Como consecuencia,

el sudor de los pacientes con FQ presenta una mayor concentración de sales, siendo esta la base del test del sudor usado para el diagnóstico de FQ [13].

4. TRATAMIENTOS

4.1. Lumacaftor/ivacaftor

Comercializado en España como Orkambi, es un medicamento utilizado en pacientes que presentan la mutación genética F508del. Este medicamento se utiliza únicamente en pacientes que presentan la mutación en ambos alelos. Contiene los principios activos de Lumacaftor e Ivacaftor: el lumacaftor aumenta el número de proteínas CFTR en la superficie celular mientras que el ivacaftor aumenta la actividad de las proteínas CFTR defectuosas. Esto hace que la mucosidad y los jugos digestivos sean menos espesos. Los estudios realizados en pacientes de distintos rangos de edad muestran la eficacia de Orkambi en el tratamiento de la patología, ya que hubo una gran mejora en el funcionamiento de la proteína CFTR y en la calidad de vida de los pacientes.

Orkambi tiene efectos adversos, entre los que se destacan los hepáticos (principalmente aumento de transaminasas), intestinales y respiratorios, considerados en general leves o moderados. La Agencia Europea del Medicamento, por tanto, autorizó su uso para los pacientes con FQ [14].

4.2. Ivacaftor

Comercializado en España como Kalydeco, se usa en monoterapia para tratar la fibrosis quística en pacientes a partir de dos o más años de edad que presentan una de las nueve mutaciones en el gen que codifica la CFTR. Las mutaciones son: G551D, G1244E, G1349D, G178R, G551S, S1251N, S1255P, S549N y S549R, también conocidas como mutaciones de apertura del canal. También se utiliza como tratamiento para pacientes con fibrosis quística mayores de 18 años que presentan la mutación R117H en el gen CFTR.

El principio activo del ivacaftor aumenta la actividad de la proteína CFTR defectuosa, esto hace que el moco y los jugos digestivos sean menos espesos, ayudando a aliviar los síntomas de la enfermedad.

Se realizaron estudios sobre los beneficios de este medicamento en pacientes que presentaban todas las mutaciones anteriormente descritas y se demostró que se producía una mejora en la función pulmonar de los pacientes comprendidos en varios rangos de edad.

También se vio que Kalydeco combinado con tezacaftor es eficaz en pacientes que presentan la mutación F508del de ambos progenitores o la mutación F508del de uno de los padres y las mutaciones P67L, R117C, L206W, R352Q, A455E, D579G, 711+3A→G, S945L, S977F, R1070W, D1152H, 2789+5G→A, 3272 26A→G o 3849+10kbC→T.

Se ha demostrado que el uso de este medicamento, tanto solo o junto con tezacaftor mejora la función pulmonar en pacientes que presentan mutaciones específicas, mostrando también un perfil de seguridad aceptable. La Agencia Europea del Medicamento ha autorizado tanto

ivacaftor como la combinación ivacaftor/tezacaftor; no obstante, también indicó que los datos sobre los efectos a largo plazo del medicamento son limitados.

4.3. Lumacaftor

El lumacaftor, también conocido como VX-809 es un corrector de CFTR, que mejora el procesamiento y la maduración del CFTR en la célula. Se ha demostrado que, *in vitro*, el lumacaftor corrige el plegado y procesamiento de CFTR en las células mutacionales F508del; también se ha visto que aumenta las secreciones de cloruro en las células epiteliales bronquiales humanas. Las pruebas llevadas a cabo en pacientes demostraron que es efectivo, pero su acción frente a la enfermedad es mucho mayor si se combina con ivacaftor [15].

4.4. Ataluren

El ataluren es un fármaco empleado en enfermedades causadas por la aparición de codones de parada prematuros entre las que se incluye la distrofia muscular de Duchenne [16]. Sin embargo, su uso en la FQ resulta controvertido debido a un ensayo en el que su empleo como tratamiento no demostró eficacia en aumentar la capacidad respiratoria de los pacientes [17]. Recientemente, se realizó otro ensayo con el objetivo de clarificar si el uso del ataluren presentaba beneficios en los pacientes de FQ, demostrando que no había resultados beneficiosos tras su administración [18].

4.5. Otros tratamientos

Existen otros tratamientos bajo investigación científica que persiguen el objetivo de mejorar la hidratación del moco en los pacientes sin actuar sobre el canal CFTR. Un ejemplo de ello es el uso de bloqueantes del canal ENaC, que como ya ha sido mencionado, en personas con FQ se encuentra sobreactivado, retirando iones de Na⁺ del moco y, como consecuencia, provocando la salida de agua de su composición; otro ejemplo lo constituyen los activadores de otros canales de cloro alternativos, es decir, canales de cloro presentes en la membrana de las células de epitelios secretores que no son codificados por el gen *cftr* [19].

En lo que respecta a la terapia génica (el uso de un ADNc sin mutaciones que permita ser usado para la transcripción de canales CFTR funcionales) no se ha conseguido una buena eficacia ya que los sistemas de vectorización utilizados para transportar la molécula de ADN, como virus y liposomas, no ofrecen buenos resultados [20]. La edición génica (la reparación de la mutación en el propio ADN celular) aún permanece en sus inicios como propuesta terapéutica y, en el caso de la FQ, aunque ofrecería una solución que perduraría en el tiempo, no se han realizado suficientes estudios para asegurar su éxito en modelos animales ni en personas [21].

5. CONCLUSIONES

La fibrosis quística afecta a la proteína CFTR, hay numerosas mutaciones que afectan a la proteína en cuestión y se han clasificado en seis tipos, en función del mecanismo por el que causan la enfermedad. Todas estas mutaciones

afectan a distintos aparatos y sistemas, aunque pueden expresarse con fenotipos más o menos graves.

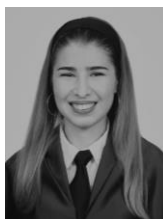
A lo largo de los años se han desarrollado varios tratamientos, desde medicamentos para mejorar la función de la CFTR, hasta terapia génica. A pesar de que estas técnicas más sofisticadas en principio deberían dar mejores resultados, los tratamientos más efectivos para esta enfermedad actualmente son aquellos que centran en aumentar la actividad de CFTR para paliar su mal funcionamiento (ivacaftor) o la combinación de estos con otros que mejoran el procesamiento y la maduración del CFTR en la célula (lumacaftor/ivacaftor).

REFERENCIAS

- [1] S. Corriveau, J. Sykes, A. L. Stephenson, "Cystic fibrosis survival: the changing epidemiology," *Curr Opin Pulm Med*, vol. 24, no. 6, pp. 574–578, Nov 2018. Doi: 10.1097/MCP.0000000000000520
- [2] I. Callebaut, P. A. Chong, J. D. Forman-Kay, "CFTR structure," *J Cyst Fibros*, vol. 17, no. 2, pp. S5–S8, Mar 2018. Doi: 10.1016/j.jcf.2017.08.008
- [3] G. Palma, B. A. Kotsias, & G. I. Marino, "Funciones de los canales iónicos CFTR y ENAC en la fibrosis quística," *Medicina* (Buenos Aires), vol. 74, no. 2, pp. 133–139, Apr 2014.
- [4] E. Fernandez Fernandez, C. De Santi, V. De Rose, C. M. Greene, "CFTR dysfunction in cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease," *Expert Rev Respir Med*, vol. 12, no. 6, pp. 483–492, Jun 2018. Doi: 10.1080/17476348.2018.1475235
- [5] C. Castellani, B. M. Assael, "Cystic fibrosis: a clinical view," *Cell Mol Life Sci*, vol. 74, no. 1, pp. 129–140, Jan 2017. Doi: 10.1007/s00018-016-2393-9
- [6] C. S. Kim, S. Ahmad, T. Wu, W. G. Walton, M. R. Redinbo, R. Tarran, "SPLUNC1 is an allosteric modulator of the epithelial sodium channel," *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*, vol. 32, no. 5, pp. 2478–2491, May 2018. Doi: 10.1096/fj.201701126R
- [7] J. Freeman, C. Y. Ooi, "Pancreatitis and pancreatic cystosis in Cystic Fibrosis," *J Cyst Fibros*, vol. 16, pp. S79–S86, Nov 2017. Doi: 10.1016/j.jcf.2017.07.004
- [8] N. J. Hart et al., "Cystic fibrosis-related diabetes is caused by islet loss and inflammation," *JCI insight*, vol. 3, no. 8, Apr 2018. Doi: 10.1172/jci.insight.98240
- [9] K. Kunzelmann, R. Schreiber & A. Boucherot, "Mechanisms of the inhibition of epithelial Na⁺ channels by cfr and purinergic stimulation," *Kidney Int*, vol. 60, no. 2, pp. 455–61, Aug 2001. Doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.060002455.x
- [10] R. C. De Lisle, D. Borowitz, "The cystic fibrosis intestine," *Cold Spring Harb Perspect. Med*, vol. 3, no. 9, 2013. Doi: doi: 10.1101/cshperspect.a009753
- [11] D. A. S. de Souza, F. R. Faucz, L. Pereira-Ferrari, V. S. Sotomaior, & S. Raskin, "Congenital bilateral absence of the vas deferens as an atypical form of cystic fibrosis: reproductive implications and genetic counseling," *Andrology*, vol. 6, no. 1, pp. 127–135, Jan 2018
- [12] F. Ratjen, G. Döring, "Cystic fibrosis," *Lancet*, vol. 361, no. 9358, pp. 681–689, Feb 2003. Doi: 10.1016/S0140-6736(03)12567-6
- [13] K. De Boeck, F. Vermeulen, L. Dupont, "The diagnosis of cystic fibrosis," *Presse Med*, vol. 46, no. 6P2, pp. 97–108, Jun 2017. Doi: 10.1016/j.lpm.2017.04.010
- [14] European Medicines Agency, "Orkambi, INN-lumacaftor & ivacaftor," Public assessment report, 2019, EMA/843782/2018.
- [15] R. S. Pettit, "Los medicamentos modificadores de la regulación de la conducción de la fibrosis quística a través de la membrana (CFTR): El futuro del tratamiento de la fibrosis quística," *Ann Pharmacother*, vol. 46, no. 7–8, pp. 1065–1075, Jul 2012. Doi: 10.1345/aph.1R076.
- [16] D. Shoseyov, M. Cohen-Cymerknoh, and M. Wilschanski, "Ataluren for the treatment of cystic fibrosis," *Expert Rev Respir Med*, vol. 10, no. 4, pp. 387–391, Apr 2016. Doi: 10.1586/17476348.2016.1150181
- [17] E. Kerem et al., "Ataluren for the treatment of nonsense-mutation cystic fibrosis: A randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial," *Lancet Respir Med*, vol. 2, no. 7, pp. 539–547, Jul 2014. Doi: 10.1016/S2213-2600(14)70100-6
- [18] M. W. Konstan et al., "Efficacy and safety of ataluren in patients with nonsense-mutation cystic fibrosis not receiving chronic inhaled aminoglycosides: The international, randomized, double-blind, placebo-controlled Ataluren Confirmatory Trial in Cystic Fibrosis (ACT CF)," *J Cyst Fibros*, vol. S1569-1993, no. 20, pp. 30030–8, Jan 2020. Doi: 10.1016/j.jcf.2020.01.007
- [19] I. Fajac, K. De Boeck, "New horizons for cystic fibrosis treatment," *Pharmacol Ther*, vol. 170, pp. 205–211, Feb 2017. Doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.11.009
- [20] Z. Yan, P. B. J. McCray, J. F. Engelhardt, "Advances in gene therapy for cystic fibrosis lung disease," *Hum Mol Genet*, vol. 28, no. R1, pp. 88–94, Oct 2019. Doi:10.1093/hmg/ddz139
- [21] K. Mention, L. Santos, P. T. Harrison, "Gene and base editing as a therapeutic option for cystic fibrosis-learning from other diseases," *Genes*, vol. 10, no. 5, pp. 387–, May 2019. Doi:10.3390/genes1005038



Teresa Porras García de Blanes, recibió el título de Graduada en Biología por la Universidad de Córdoba en el año 2019. Actualmente es estudiante del Máster en Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo de Olavide, en Sevilla.



Ariadna Crespo González, recibió el título de Graduada en Bioquímica con mención en Bioquímica Molecular por la Universidad de Sevilla en 2019. Actualmente es estudiante del Máster en Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo de Olavide, en Sevilla.

Ibuprofeno vs indometacina en el tratamiento del ductus arterioso persistente

Rocío Bayo Felicio

Resumen—El ductus arterioso es una estructura vascular que se encarga de conectar la aorta descendente proximal con la arteria pulmonar principal. El conducto arterioso persistente es una estructura vascular fetal responsable de una de las cardiopatías congénitas más comunes en recién nacidos. Como norma general, se trata con inhibidores no selectivos de la enzima ciclooxygenasa, como la indometacina. En este artículo, trataremos de determinar la efectividad y seguridad del ibuprofeno comparado con la indometacina. El ibuprofeno ha conseguido mostrar una mayor seguridad y una menor aparición de problemas renales.

Palabras Claves— Ductus arterioso persistente, Cardiopatía congénita, Ibuprofeno, Indometacina, Inhibidores de ciclooxygenasa.

1. INTRODUCCIÓN

El ductus arterioso es una estructura vascular que se encuentra durante el periodo fetal conectando la aorta proximal con la arteria pulmonar principal. Cuando el ductus arterioso no se cierra después del nacimiento se produce una situación conocida como el ductus arterioso persistente, una de las cardiopatías congénitas más comunes en recién nacidos, que se observa en la figura 1. Este cierre es esencial para la vida del neonato y se suele producir espontáneamente en los recién nacidos a término, antes de las 72 horas posteriores al nacimiento. No obstante, en los prematuros este cierre se puede prolongar hasta pasada la primera semana de vida, incluso más si ha necesitado ventilación mecánica. Esta apertura provoca que el corazón se vea obligado a trabajar más de lo necesario, aumentando así la presión arterial en los pulmones, provocando efectos nocivos en el sistema respiratorio inmaduro de los neonatos prematuros. [1],[2],[3]

Puede afectar hasta a un 80% de los recién nacidos con muy bajo peso al nacer y al 70% de los que nacen antes de concluir las 28 semanas de gestación. El ductus arterioso persistente provoca complicaciones como insuficiencia cardíaca, disfunción renal y enfermedades pulmonares crónicas. Por todo esto, el cierre de el ductus arterioso es esencial para la vida extrauterina.

Hay dos factores muy importantes que contribuyen al cierre, el primer factor es el aumento de la presión parcial de oxígeno en sangre arterial y el segundo factor es el cierre del flujo placentario. Para tratar este problema se pueden utilizar el cierre farmacológico o cierre quirúrgico, pero este último solo se utiliza en casos en los cuales el cierre farmacológico se encuentra contraindicado. [1],[4],[5]

En vista a lo expuesto con anterioridad, en el tratamiento del ductus arterial persistente es de vital importancia encontrar un tratamiento farmacológico que no provoque daños al paciente, o en su defecto que provoque el menor daño posible. Por ello, para evitar el cierre quirúrgico se recurría al tratamiento con indometacina. Sin embargo, en este artículo vamos a descubrir los beneficios del tratamiento de esta enfermedad con el ibuprofeno, que reduce los daños posteriores al tratamiento.

2. EPIDEMIOLOGÍA

Aún no se comprenden los factores que provocan el ductus arterioso persistente, pero queda claro que esta incidencia aumenta con la prematuridad. En los nacidos a término ocurre esporádicamente y en algunos casos influidos por factores genéticos, o por infecciones prenatales. Es por ello que la incidencia, si no hablamos de prematuridad, es de solo 1 de cada 2000 nacidos, lo cual supone entre el 5% y el 10% de las cardiopatías congénitas. [2],[6]

Sin embargo, la incidencia en recién nacidos prematuros es considerablemente mayor, entre el 20% y el 60%,

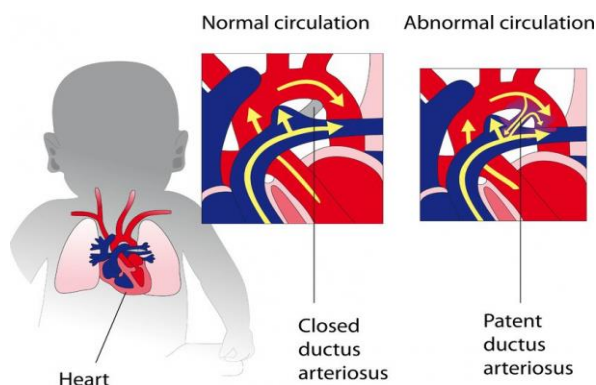


Fig. 1. Diferencia entre el ductus arterioso cerrado y abierto.[3]

Cuanto menor es el peso del bebé prematuro, mayor es la probabilidad de sufrir esta enfermedad, porque se requiere más tiempo para el cierre del conducto arterioso.

esto se debe a la inmadurez para realizar ciertos mecanismos. El retraso en el cierre de los recién nacidos prematuros está inversamente relacionado con la edad gestacional y el peso al nacer. Esta patología en neonatos que pesan menos de 1200g, puede afectar hasta al 80%, mientras que, si pesan menos de 2000 g el porcentaje disminuye hasta el 40%. En la siguiente tabla [figura 2], se muestra la incidencia en varios rangos de peso, observando la relación inversa, mencionada anteriormente. A lo largo de los años, podemos ver que varían muy poco los porcentajes. [2],[4]

Birth weight	Epoch		
	1987-1988	1993-1994	1999-2000
501-750 g	32	55	50
751-1,000 g	41	46	37
1,001-1,500 g	17	17	17

Adapted from references 9 and 10

Fig. 2 Incidencia del conducto arterioso persistente por peso al nacer, para neonatos nacidos en la Res de Investigación Neonatal del NICHD por épocas (%) [2]

3. TRATAMIENTO DEL DUCTUS

En la actualidad, hay múltiples métodos para tratar y prevenir el ductus arterioso persistente. Los tres métodos principales son: restricción de líquidos, tratamiento farmacológico y tratamiento quirúrgico. Sin embargo, existe mucha variedad en cuanto a cómo y cuándo tratar la enfermedad. [2],[4]

3.1. Tratamiento Farmacológico

El tratamiento farmacológico se centra actualmente en inhibidores no selectivos de la enzima ciclooxigenasa. La ciclooxigenasa está implicada en la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas, tromboxano y prostaciclina. Más concretamente, la indometacina y el ibuprofeno son los más usados, puesto que promueven el cierre hasta en un 70-93%. La función de estos fármacos es disminuir las concentraciones de la prostaglandina, que tiende a mantener abierto el ductus arterioso. [1],[2],[7]

3.1.1 Ibuprofeno

El ibuprofeno es uno de los inhibidores no selectivos de la enzima ciclooxigenasa, utilizado en el tratamiento del conducto arterioso persistente. Cuando hay que tratar a neonatos prematuros con esta afección, una de las opciones más seguras y efectiva es el ibuprofeno oral, sin embargo, no es la vía más usada porque el tracto gastrointestinal mal perfundido de los prematuros no favorece la absorción de los medicamentos administrados por vía oral. Sin embargo, y a pesar de existir pocos estudios al respecto, en aquellos que se han podido realizar se concluye que una alta dosis de ibuprofeno oral obtiene mayor probabilidad de cierre que una dosis estándar de ibuprofeno intravenoso. [8],[9]

Este antiinflamatorio no esteroideo ha resultado ser tan eficaz como la indometacina para el cierre del conducto arterial persistente. El ibuprofeno aporta ventajas como la

disminución de efectos renales adversos o un menor riesgo de enterocolitis necrotizante. También, el ibuprofeno tiene un impacto menor en el flujo sanguíneo cerebral y el mesentérico, viendo así reducido los efectos sobre el desarrollo neurológico. [1],[2],[9]

Respecto a las dosis, la más recomendada para el cierre de la comunicación es de 20 mg/kg/día, siendo la dosis máxima de 40 mg/kg/día. Para administrar esta dosis se realizan 3 tomas con intervalos de 24 horas. La administración intravenosa dura 15 minutos. [1],[8]

3.1.2 Indometacina

La indometacina es un inhibidor no selectivo de la enzima ciclooxigenasa, es un medicamento que se usa para tratar el dolor muscular y óseo en adultos. Esto aplicado en neonatos prematuros produce el cierre del ductus arterioso persistente. Sin embargo, no mejora la discapacidad a largo plazo ni los problemas neurológicos. [1],[10]

Como resultado de algunos estudios se ha descubierto que el tratamiento temprano, antes de las 72 horas, disminuye la probabilidad de desarrollar enfermedades pulmonares crónicas, enterocolitis necrotizante y la necesidad de intervención quirúrgica. La indometacina presenta una desventaja, eleva los valores séricos de creatinina provocando más daño renal que el ibuprofeno. Algunos estudios han demostrado que puede ser menos eficaz en el cierre en recién nacidos con pocas semanas de gestación. Para lograr la reducción en la tasa de fracaso del cierre ductal, se ha estudiado la administración de un ciclo prolongado, de 6 a 8 dosis en lugar de 2 a 3 dosis que es lo habitual. La dosis normal más habitual es de 0,2 mg/kg/cada 12-24 horas, esta cantidad la tomará durante tres días seguidos. Se administra vía intravenosa durante 20-30 minutos. [4],[11],[12]

3.2 Tratamiento Quirúrgico

El tratamiento quirúrgico de un conducto arterioso persistente implica normalmente ligadura o combinación de ligadura y división del ductus arterioso. Para ello se utilizan clips quirúrgicos o suturas no absorbibles. Se suele realizar una cirugía toracoscópica asistida por vídeo, pero a veces es necesario la ligadura abierta. El tratamiento quirúrgico solo se realiza en casos de fracaso con el tratamiento farmacológico o porque no pueden ser tratados farmacológicamente. Esto se debe a que el tratamiento quirúrgico supone un mayor riesgo de displasia broncopulmonar, deterioro neurosensorial y retinopatía del prematuro grave. Además, hay complicaciones durante la operación como hemorragia, neumotórax e infecciones. [2],[6],[13]

4. COMPARATIVA IBUPROFENO-INDOMETACINA

Como se ha podido comprobar, en el tratamiento farmacológico siempre se ha usado la indometacina, pero en los últimos estudios se ha demostrado que el ibuprofeno tiene la misma eficacia. Sin embargo, se ha descubierto que el ibuprofeno tiene una menor incidencia de efectos secundarios. En la figura 2, se puede comprobar las diferencias principales entre los dos tratamientos. [14]

Seguridad	Mortalidad neonatal	Mortalidad de RRN	Hemorragia intravenicular	Enterocolitis necrotizante	Sepsis	Oliguria	EPC
Ibuprofeno (n=11)	9%	27%	9%	0%	66,7%	0%	0%
Indometacina (n=18)	22,2%	0%	27,8%	22,2%	63,6%	0%	0%

Fig. 3 Variables de seguridad del ibuprofeno y la indometacina [14]

Además, como están tratando a recién nacidos prematuros, las dosis también tienen mucha importancia [Figura 4]. Se intenta reducir el tiempo de tratamiento y el número de dosis para evitar que los daños se agraven en el tiempo. En muchos casos, incluso las horas son importantes, por la inmadurez que presenta el organismo del paciente. Cuanto antes se trate mejor será su posterior recuperación.

Edad Inicio tratamiento	Indometacina (mg/kg/dosis)			Ibuprofeno (mg/kg/dosis)	
	< 48 horas	2-7 días	> 7 días	1ª dosis	10
1ª dosis	0,20	0,20	0,20	2ª dosis	5
2ª dosis	0,10	0,20	0,25	3ª dosis	5
3ª dosis	0,10	0,20	0,25		
Se administra cada 12 horas vía EV				Se administra cada 24 horas vía EV	

Fig. 4 Comparativa entre las dosis de ibuprofeno y de indometacina en el tratamiento del ductus arterioso persistente. [15]

5. CONCLUSIONES

El conducto arterioso persistente es una enfermedad que afecta a muchos neonatos prematuros o de bajo peso, pudiendo ocasionarles grandes problemas, llegando a producir la muerte. Una opción sería la cirugía, aunque quedaría relegada, como ya se ha comentado, a un segundo plano cuando las opciones farmacológicas no estuviesen indicadas.

Por su seguridad, en los últimos años se ha centrado la investigación en el tratamiento farmacológico. Principalmente, se ha usado la indometacina para el tratamiento de esta patología, sin embargo, en recientes estudios se ha comprobado la eficacia del ibuprofeno en el tratamiento del ductus arterioso persistente. En numerosos estudios se ha probado la eficacia del ibuprofeno e incluso se ha comparado con la eficacia de la indometacina. Como hemos podido comprobar en este artículo, aparentemente la eficacia de ambos es similar. No obstante, han podido comprobar que el ibuprofeno reduce los efectos secundarios del tratamiento, sobretudo reduce los problemas renales. Por todo esto, el ibuprofeno se está postulando como el tratamiento a seguir para tratar dicha enfermedad por encima de la indometacina y de la cirugía. Aunque están investigando para realizar el tratamien-

to de forma oral, a día de hoy, el tratamiento más apropiado sería el ibuprofeno administrado de manera intravenosa.

REFERENCIAS

- [1] H.A. Escobar, G. Meneses-Gavira, N. Revelo-Jurado, J.F. Villa-Rosero, J.E. Ijají-Piamba, *et al.* "Tratamiento farmacológico del conducto arterioso permeable en recién nacidos prematuros", *Rev. Fac. Med.* 2019 Vol. 67 No. 2: 333-9, Sep. 2017.
- [2] J.E. Dice y J. Bathia, "Patent ductus arteriosus: an overview" *J Pediatr Pharmacol Ther.* Vol. 12 No 3: 138-46, Jul. 2007.
- [3] R.K. Subramanyan y L. Kane, "Persistencia del conducto arterioso", *Web Sociedad de Cirujanos Torácicos.* Abr. 2018.
- [4] M.D. Ruiz González, E. Gómez Guzmán, M.J. Párraga Quiles, M.A. Tejero y J.M. Guzmán Cabañas, "Ductus arterioso persistente", *AEP Protocolos de Neonatología* No 36:353-61, 2008.
- [5] F. Bagnoli, A. Rossetti, G. Messina, A. Mori, M. Casucci, *et al.* "Treatment of patent conducto arterioso (PDA) using ibuprofen: renal side-effects in VLBW and ELBW newborns". *J Matern Fetal Neonatal Med.* Vol. 26 No 4:423-9. 2013.
- [6] D.J. Schneider y J.W. Moore. "Patent ductus arteriosus." *Circulación*, No 114: 1873-1882. Oct. 2006
- [7] R. Lucas, T.D. Warner, I. Vojnovic y J.A. Mitchell. "Cellular mechanisms of acetaminophen: role of cyclo-oxygenase." *FASEB J.*; Vol. 19 No 6:635-7. Abr. 2005.
- [8] A. Ohlsson, R. Walia y S.S. Shah. "Ibuprofeno para el tratamiento del conducto arterioso persistente en recién nacidos prematuros o de bajo peso al nacer (o ambos)" *Cochrane Database of Syst. Rev.*, Vol. 2 No. CD003481, Feb. 2020.
- [9] S. Mitra, I.D. Florez, M.E. Tamayo, L. Mbuagbaw, T. Vanniyasingam, *et al.* "Asociación de placebo, indometacina, ibuprofeno y acetaminofeno con el cierre del conducto arterioso persistente hemodinámicamente significativo en lactantes prematuros: revisión sistemática y metanálisis". *Jama*, Vol. 319 No 12: 1221-38, Mar. 2018.
- [10] P.W. Fowlie, P.G. Davis y W. McGuire. "Indometacina intravenosa profiláctica para prevenir la mortalidad y la morbilidad en recién nacidos prematuros" *Cochrane Database of Syst. Rev.* Vol. 7 No CD000174, 2010.
- [11] A. Gimeno Navarro, A. Cano Sánchez, C. Fernández Gilino, J.I. Carrasco Moreno, I. Izquierdo Macián, *et al.* "Ibuprofeno e indometacina en neonatos pretérmino por encima de las 24 horas de vida" *Jones et al* 2005.
- [12] A. Gimeno Navarro, V. Modesto Alapont, F. Morcillo Sopena, C. Fernández Gilino, I. Izquierdo Macián, *et al.* "Ibuprofeno frente a indometacina para el tratamiento de la persistencia del conducto arterioso del prematuro: revisión sistemática y metaanálisis" *An. Pediatr.* Vol 63 No 3:212-28 Sep. 2005.
- [13] F. Laborde, T.A. Folliguet, P.Y. Etienne, D. Carbognani, A. Battissa, *et al.* "Video-thorascopic surgical interruption of patent

ductus arteriosus: routine experience in 332 pediatric cases".
Eur. J. Cardiothorac. Surg. No 11: 1052–1055. Mar. 1997.

- [14] I. Plasencia García, A. Callejón Callejón, S. Roper, S. López Mendoza, M. González, *et al.* "Ibuprofeno frente a indometacina en el tratamiento del ductus arterioso persistente (DAP)"
Bol. Pediatr. Vol. 46 No 197: 244-50. 2006
- [15] R. Salas, P. Lavín, Y. Rincón, J. Miranda y M. López. "Complicaciones digestivas y renales por indometacina e ibuprofeno en prematuros extremos con ductus arterioso permeable".
Rev. Chil. Pediatr. Vol.88 No 2: 243-51. Abr.2017



Rocío Bayo Felicio es estudiante del tercer curso del Grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

Desalinización de agua de mar

Celeste María Quirós Quirós

Resumen—El aumento de la población y la mejora de su nivel de vida ha provocado una demanda de agua creciente y generalizada en toda la humanidad. Esto, unido a la expansión de las actividades agrícolas e industriales, ha generado una sobreexplotación de los recursos disponibles de agua dulce y ha forzado la búsqueda de nuevas soluciones para cubrir esta necesidad. Durante los últimos años se han construido numerosas plantas de desalinización de agua de mar para aumentar los recursos hídricos disponibles, y se prevé que la construcción de nuevas plantas de desalinización aumente en un futuro próximo. En esta revisión se analizaron las ventajas e inconvenientes de varios procesos para la desalinización, con énfasis en los que representan menor consumo energético, bajos costos y menor impacto ambiental, además, del posible papel de los materiales avanzados y las tecnologías innovadoras como solución tecnológica a la escasez mundial de agua.

Palabras Claves— Estrés hídrico, Desalinización, Ósmosis inversa, Permeado, Salmuera.

1. INTRODUCCIÓN

La escasez de agua es uno de los desafíos mundiales más graves de nuestro tiempo. En la actualidad, más de un tercio de la población mundial vive en países con estrés hídrico y para 2025 se prevé que esta cifra aumente a casi dos tercios [1]. El reto de proporcionar agua potable abundante y segura se complica aún más por el crecimiento de la población, la industrialización, la contaminación de los recursos de agua dulce disponibles y el cambio climático [2].

Los únicos métodos para aumentar el suministro de agua más allá de lo que se puede obtener del ciclo hidrológico son la desalinización y la reutilización del agua [2]. De éstos, las innovaciones tecnológicas permiten que la desalinización de agua sea una de las opciones más competitivas y eficaces para cubrir la cada vez mayor demanda de agua dulce que se genera a nivel mundial, sin perjudicar los ecosistemas naturales de agua dulce [3].

La desalinización de agua de mar se basa en la separación del flujo de una solución acuosa con un determinado contenido de sales en dos flujos distintos; La primera corriente de salida corresponde al permeado, y posee una concentración de sales mucho menor a la concentración de entrada, mientras que la segunda corriente es conocida como salmuera y la concentración de sales es mayor a la del flujo de entrada [4] (Figura 1).

Existen diversas tecnologías disponibles actualmente para desalinizar el agua de mar y, aunque, tienen características distintas de acuerdo con el tipo de energía, diseño y producción que requiere cada una, todas tienen el mismo objetivo, reducir la concentración de sales disueltas del agua del mar. Los procesos de desalinización analizados en este artículo fueron: evaporación Multi-Etapas-Flash (MSF), ósmosis inversa, electrodiálisis y destilación Multi-Efecto (MED).

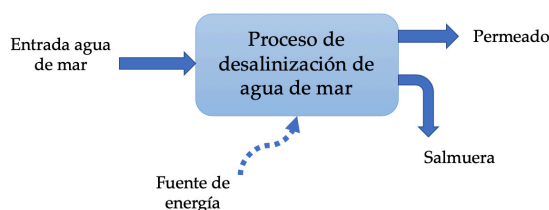


Figura 1: Proceso de desalinización de agua de mar.

2. TÉCNICAS DE DESALINIZACIÓN

2.1. Sistemas térmicos por destilación

Los procesos de destilación necesitan calor para provocar el cambio de estado de líquido a vapor, que prácticamente es independiente de la salinidad que tenga el agua y es el proceso en el cual el agua de mar se calienta hasta evaporarla, posteriormente el vapor se condensa formando agua dulce y el agua sobrante se desecha como salmuera concentrada [5].

➤ Destilación Flash Multietapa (MSF)

Tiene su fundamento en el principio de la destilación flash. El agua marina es precalentada en un tanque hasta una temperatura un poco menor a la temperatura de saturación, y posteriormente se lleva a un recipiente en donde se disminuye la presión, generando un decrecimiento en el punto de ebullición del agua para lograr que el agua se evapore, y que posteriormente se condense, obteniendo así agua pura. El calor liberado en el proceso de condensación es aprovechado, y se utiliza para el calentamiento de la salmuera en otra etapa. El producto destilado se colecta en cascada, en cada uno de los tanques colocados en paralelo con la salmuera y se bombea a un tanque de almacenamiento. La tasa de producción de este proceso depende de la temperatura del agua salada y del número de etapas que se lleven a cabo [5].

➤ Destilación Multiefecto (MED)

La tecnología de destilación multiefecto consiste en una serie de evaporadores que funcionan bajo el principio de evaporación y condensación, reduciendo la presión ambiental en cada uno de los efectos. Los efectos o evaporadores se ponen en serie, y a medida que el agua avanza por cada uno de ellos, la corriente de alimentación alcanza su punto de ebullición sin necesidad de suministrar calor adicional después del primer evaporador [5].

El vapor se condensa en un lado de un tubo lo que ocasiona la evaporación de agua salada en el otro lado. El agua salina al evaporarse es distribuida sobre la superficie exterior de tubos calentados. Dentro de cada efecto MED, se rocía agua marina fresca sobre un grupo de tubos de intercambio térmico mientras el vapor que fluye a través de los tubos se condensa volviéndose agua pura. Fuera de los tubos, la delgada película de agua marina hierve a medida que absorbe el calor del vapor. El vapor resultante pasa a través de eliminadores de rocío para atrapar gotas de salmuera remanentes [5].

La presión se reduce secuencialmente en cada efecto a medida que la temperatura se reduce y se proporciona mas calor en cada etapa para mejorar el desempeño del proceso.

Las principales características del proceso de destilación multiefecto (MED) son la alta eficiencia térmica y la elevada pureza del agua obtenida.

2.2 Sistemas de Membranas

La desalinización de agua de mar por medio de membranas es un proceso que separa el agua salina en dos vertientes, una corriente de agua potable con baja concentración de sales disueltas y, una corriente de salmuera con ósmosis inversa y electrodiálisis [5].

➤ Ósmosis inversa

En este método la solución con mayor concentración se desplaza hacia la solución menos concentrada por acción de un diferencial de energía potencial y usando como medio de transporte una membrana semipermeable, la cual requiere la aplicación de una fuerza externa para alcanzar un resultado aceptable en la separación. Cuanto mayor sea la salinidad del agua, mayor será su presión osmótica que superar [6].

El proceso debe de ir precedido por una serie de pretratamientos y el agua resultante debe ser sometida a un post tratamiento para garantizar una buena calidad en el producto, tanto en su distribución como en su almacenamiento [6].

➤ Electrodiálisis

La tecnología de electrodiálisis (ED) es un proceso de separación no convencional y de carácter electroquímico,

que separa las sales del agua por medio de la migración de los iones, a través de membranas de intercambio iónico, por medio de un campo eléctrico de corriente continua.

En este proceso, las sales disueltas ionizadas atraviesan las membranas y de esta forma, se eliminan las partículas cargadas electricamente, aunque no se produce una eliminación total de sales, sino que la reducción de salinidad es del 40% [6].

3. Ventajas y Desventajas de las principales tecnologías de desalinización

Se realiza una comparación de las técnicas de desalinización de agua de mar citadas anteriormente, teniendo como referencia las ventajas y desventajas de cada proceso (Tabla 1).

TABLA 1.

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LAS TÉCNICAS ESTUDIADAS PARA EL PROCESO DE DESALINIZACIÓN DE AGUA DE MAR (Modificada de [4]).

Procesos	Ventajas	Desventajas
Ósmosis inversa	<p>Se opera a temperatura ambiente, reduciendo los problemas de corrosión.</p> <p>La tasa de recuperación es muy baja cuando las salinidades son muy altas.</p> <p>El impacto ambiental de este proceso es prácticamente mínimo.</p> <p>Puede operarse a cualquier capacidad de producción, ya que depende del número de membranas utilizadas.</p>	<p>Ensuciamiento de las membranas.</p> <p>Los pretratamientos son muy importantes para una adecuada operación.</p>
Electrodiálisis	<p>Las membranas tienen una duración de hasta 15 años.</p> <p>Al acoplarse con ósmosis inversa pueden generarse tasas de recuperación de hasta el 98%.</p> <p>Puede utilizar diferentes fuentes de energía</p>	<p>Más costosa que la ósmosis inversa.</p> <p>Solo se puede utilizar en aguas salobres (<10.000 ppm).</p> <p>Los pretratamientos son muy importantes.</p> <p>Consumo mucha energía.</p>

	eléctrica (renovables como solar o eólica).	
MED	Costos de pretratamiento bajos. El rango de salinidad al que se puede operar es muy amplio.	Se necesitan químicos para evitar la formación de incrustaciones Alta complejidad operacional.
MSF	Fácil de construir y operar. Puede procesar agua con una salinidad de hasta 70.000 mg/L.	Requiere un alto consumo energético. No puede operar a menos del 60% de su capacidad total. No se puede acoplar con energías renovables.

De las técnicas analizadas, observamos que el proceso de desalinización de agua de mar por ósmosis inversa reúne mejores parámetros tecnológicos, de eficiencia e impacto ambiental, debido a que el proceso no requiere de cambios de estado, como los procesos de MED y MSF, que utilizan mayor consumo energético e incrementan la emisión de CO₂, provocando el efecto invernadero.

La electrodiálisis, es más utilizada para tratamiento de aguas salobres y consume elevadas cantidades de energía, ya que se basa en intercambio iónico [5,6].

Aunque las cuatro técnicas son empleadas en el proceso de desalinización, se muestra el dominio de la ósmosis inversa en casi la totalidad del mercado, con el 65% y la MSF con el 21% aproximadamente, les sigue las técnicas de MED con un 7%, electrodiálisis con un 3%, y finalmente otras técnicas que aún se encuentran en desarrollo con un 4% [4].

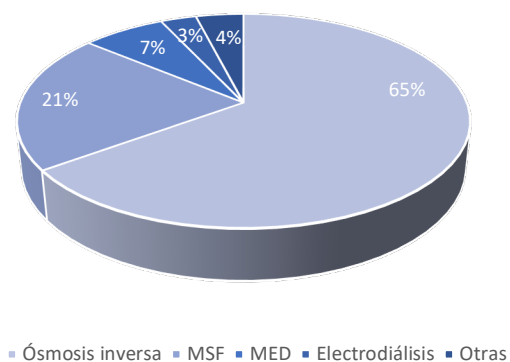


Figura 2: Porcentajes de las técnicas más empleadas en el proceso de desalinización de agua de mar (Modificada de [4]).

4. Nuevas tecnologías e innovación

Las técnicas basadas en membranas requieren un suministro de energía externa para superar la gran resistencia hidráulica causada por la filtración de tamaño exclusivo; esto requiere un alto consumo de energía de bombeo. Además, los contaminantes de pequeña escala presentes en el agua pueden causar su incrustación en la membrana, lo que reduce la eficiencia de la desalinización y aumenta la energía de bombeo necesaria, por lo tanto, se recomienda considerar el empleo de nuevos materiales para las membranas que ayuden a la filtración, utilizando menos presión, para un menor consumo energético [7].

Se han incorporado materiales con características químicas novedosas en las matrices de las membranas para resolver este problema. Sin embargo, aunque los problemas de ensuciamiento de las membranas y de consumo de energía se han resuelto parcialmente, el costo de fabricación sigue siendo alto y el proceso de producción se vuelve muy complicado [8].

Algunas de las alternativas que se están estudiando para mejorar las membranas son el empleo de un nuevo adsorbente de un complejo de Cu-MOF basado en ácido algínico para eliminar eficazmente los iones de sal del agua de mar. Los iones metálicos, incluyendo Zn, Cu y Fe, se pre-confiraron en la matriz de ácido algínico para formar hidrogeles. Las perlas de alginato de base Cu incorporadas a los MOF presentaron un gran rendimiento de adsorción de iones de sal. Además, cuando la eliminación por adsorción de los iones de sal se llevó a cabo en varias etapas, se obtuvo una extraordinaria tasa de eliminación de iones del 94,3% sin un suministro de energía externo [8].

En otros estudios, se observó que las membranas de AlPO₄18 mostraron una gran robustez y reproducibilidad, lo que sin duda hace que este material de membrana sea prometedor en la desalinización de agua [7].

5. Conclusiones

Para futuros trabajos, es fundamental investigar alternativas en los procesos analizados, en lo que se refiere al consumo energético, costos de operación, mejora de la eficiencia energética y reducción del impacto ambiental.

La ósmosis inversa es el proceso con mayor aceptación industrial y sigue expandiéndose vertiginosamente gracias a las investigaciones y el constante desarrollo de las membranas, mejorando su eficiencia y propiedades, y reduciendo sus costos, así como el consumo energético del proceso.

Los procesos para desalinizar agua, evidentemente estarán cobrando peso conforme pase el tiempo, debido al mal uso de los recursos naturales y el inminente crecimiento poblacional.

6. REFERENCIAS

- [1] Service, R. F. (2006). Desalination freshens up
- [2] Shannon, M. A., Bohn, P. W., Elimelech, M., Georgiadis, J. G., Marinas, B. J., & Mayes, A. M. (2010). Science and technology for water purification in the coming decades. In *Nanoscience and technology: a collection of reviews from nature Journals* (pp. 337-346)
- [3] Fritzmann, C., Löwenberg, J., Wintgens, T., & Melin, T. (2007). State-of-the-art of reverse osmosis desalination. *Desalination*, 216(1-3), 1-76
- [4] Fajardo Cadena, A. (2018). Desalinización de agua:¿ una alternativa sostenible para la potabilización del agua?(Bachelor's thesis, Fundación Universidad de América)
- [5] Lechuga, J., Rodríguez, M., & Lloveras, J. (2007). Análisis de los procesos para desalinización de agua de mar aplicando la inteligencia competitiva y tecnológica. *Ingeniería*, 11(3), 5-14.
- [6] Medina, J., & Antonio, J. (2000). Desalinización de aguas salobres y de mar en ósmosis inversa. *Mundi Prensa, Madrid, España*
- [7] Wang, Y., Zou, X., Sun, L., Rong, H., & Zhu, G. (2018). A zeolite-like aluminophosphate membrane with molecular-sieving property for water desalination. *Chemical science*, 9(9), 2533-2539
- [8] Elimelech, M., & Phillip, W. A. (2011). The future of seawater desalination: energy, technology, and the environment. *science*, 333(6043), 712-717

Celeste María Quirós Quirós recibió el título de Grado en Ciencias Ambientales por la Universidad de Córdoba en 2018. Actualmente se encuentra cursando el Máster en Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria en la Universidad Pablo de Olavide.



Técnicas para el estudio del biodeterioro en cuevas

Eva M^a Pereda Rosales

Resumen—La conservación del patrimonio subterráneo depende de múltiples factores, entre los cuales se encuentra el biodeterioro, un fenómeno en estrecha relación con la afluencia de público derivada del turismo. La poca efectividad de algunos tratamientos curativos ha propiciado el desarrollo de distintas líneas de estudio para la identificación de los organismos implicados, así como los mecanismos de degradación derivados de su interacción con el medio. El resultado de estos estudios es fundamental para el desarrollo de planes estratégicos de conservación, fundamentados en métodos preventivos, con el fin de preservar este delicado entorno.

Palabras Claves— Biodeterioro, Conservación Preventiva, Cuevas, Estudios Científicos, Sostenibilidad.

1. INTRODUCCIÓN

Las cuevas son parte del patrimonio natural y cultural y forman sistemas ecológicos con hábitats muy definidos y estables, aunque delicados. España cuenta con una amplia variedad de formaciones kársticas, con ricos afloramientos geológicos y manifestaciones artísticas que hacen de ellas un foco de atracción turística [1].

Sin embargo, el turismo ejerce una fuerte presión en la atmósfera subterránea y su presencia está relacionada con los desequilibrios producidos entre las poblaciones microbianas [2] [3]. En algunos casos, los graves efectos del biodeterioro, en estrecha relación con otros fenómenos de alteración propios del medio hipogeo, han obligado a adoptar medidas preventivas, ante la falta de efectividad de los tratamientos curativos. La cueva de Nerja, Tito Bustillo o El Castañar de Ibor [1] [4] [5], son algunos ejemplos documentados de esta circunstancia, así como los ya conocidos de Altamira o Lascaux.

En las últimas décadas, se están realizando grandes esfuerzos para conocer los mecanismos de microbiodegradación en cueva, a través de técnicas analíticas, ópticas, de ensayo o estadísticas. Todo ello, con el fin de identificar y cuantificar las poblaciones microbióticas y establecer su relación con los procesos de transformación de los materiales endokársticos.

2. LOS SISTEMAS KÁRSTICOS Y SU CONSERVACIÓN

2.1. Dinámica interna de una cueva

Una cueva kárstica es el resultado de la acción disolutiva del agua sobre un determinado tipo de rocas denominadas karstificables, por lo general, carbonáticas [6]. Los sistemas kársticos presentan una dinámica interna definida por un singular régimen energético, atmósfera térmica casi constante, un elevado contenido de vapor de agua y un determinado intercambio de aire con el exterior

[1]. Estas características, la orientación de la cavidad, su morfología, la textura y porosidad de la superficie rocosa y el desarrollo de una biocenosis específica, establecerán el delicado equilibrio de la cueva y la estabilidad del ecosistema.

Las variables de una atmósfera tan frágil pueden verse afectadas por múltiples factores que generarán alteraciones de carácter físico, químico o biológico [2] estrechamente relacionadas entre sí. Estos agentes de degradación son capaces de transformar el sustrato rocoso favoreciendo la aparición de depósitos matéricos *-moonmilk* [4], eflorescencias, espeleotemas-, la corrosión de la superficie o el desprendimiento y exfoliación del soporte rocoso.

2.2. Alteraciones de naturaleza físico-química

Los cambios de temperatura (T^a) y su repercusión en la Humedad Relativa (HR) son la principal causa de los procesos de alteración físicos que pueden originar fenómenos de dilatación-contracción de los materiales de la pared y procesos de desecación o condensación. Estas variaciones son capaces de provocar la aparición de vermiculaciones y precipitaciones salinas o de producir erosión por lavado y arrastre, exfoliación del soporte rocoso e incluso, el desplome de placas [7].

En estrecha relación, se encuentran las alteraciones de naturaleza química, producto del desequilibrio estequiométrico de la atmósfera hipogea a partir de las variaciones en las concentraciones de agua y de dióxido de carbono (CO_2) [3]. La atmósfera tenderá a equilibrarse mediante el aumento o disminución del pH del agua y la disolución o precipitación de calcita. Este proceso de acidificación puede favorecer la difusión de pigmentos, pero también, la disolución y meteorización química de la superficie [2].

2.3. Biodeterioro

Los fenómenos de biodeterioro están relacionados con la alteración de la biocenosis presente en la cavidad y pueden ser consecuencia de cambios microclimáticos o por la introducción de especies del exterior. Ambas situaciones desencadenan fenómenos de competencia entre las

colonias presentes y las pioneras. Bacterias, cianobacterias, hongos, líquenes, algas y briófitos [1] colonizan el soporte produciendo daños por el crecimiento endolítico de sus hifas o bien, por la segregación de compuestos químicos -ácidos orgánicos, álcalis o pigmentaciones- derivados de sus funciones metabólicas [2]. En este apartado, hay que considerar igualmente los efectos de la presencia de mesofauna y microfauna [7].

3.4. El Factor Humano

La actividad humana es, sin duda, el factor de degradación exógeno más reseñable. La transformación del paisaje, derivada de las labores agrícolas, ganaderas, forestales o mineras, el uso de pesticidas o la contaminación -introducida en la cueva por el agua de infiltración o a través del intercambio de aire con el exterior-, son algunas de las consecuencias [2] [3].

Sin embargo, los efectos internos son los que producen un impacto más directo sobre la atmósfera subterránea y en este espectro, aparte de los actos vandálicos o los accesos incontrolados, cabe incluir el acondicionamiento para el público [4]. La necesidad de accesibilidad para la recepción de visitantes implica la realización de cambios en la morfología interna: nivelación de suelos, cerramientos e instalación de iluminación artificial, entre otros [8].

Asimismo, cada visitante implica un aporte de calor, vapor de agua y CO₂ [3], y es portador de organismos externos al interior de la cavidad: esporas, bacterias y materia orgánica que son transportados a través de la ropa o de la piel [6] [9].

3. DIVERSIDAD MICROBIANA EN EL MEDIO SUBTERRÁNEO

3.1. Microorganismos

Los microorganismos forman el conjunto más extendido y de mayor biomasa de nuestro planeta [6] dando lugar a comunidades muy dinámicas con capacidades metabólicas asombrosas, adaptables a los hábitats más extremos, como el subterráneo. La ausencia casi total de luz, humedad próxima a la saturación y bajo contenido en nutrientes, hacen que las comunidades naturales sean poco diversas, con estructura simple y sensibles a los cambios [1]. No obstante, su presencia es fundamental en la mayoría de procesos biogeoquímicos y en la conservación de los ecosistemas [5].

3.2. Desequilibrio de las comunidades

Dos factores fundamentales favorecen la presencia de nuevos organismos en entornos tan definidos: la entrada de materia orgánica al interior de la cavidad y la disponibilidad de energía generada por la luz artificial. Esta situación permite la supervivencia de organismos fotosintéticos y heterótrofos [6] que forman comunidades complejas llamadas *biofilms* o biopelículas [5] [10], dominadas por cianobacterias y microalgas, junto a actinobacterias, arqueas, hongos e incluso pequeños artrópodos. También se han identificados briófitos, helechos y líquenes en zonas con luz o alrededor de los focos de iluminación artificial formando pátinas de coloración verde [4].

El desarrollo de esta microbiota supone la colonización de paredes y espeleotemas que pueden provocar decoloración, pérdida de consistencia del soporte rocoso, ruptura y disolución.

4. CUANTIFICACIÓN Y ESTUDIO DE LA BIOMASA

Para la identificación y cuantificación de las poblaciones microbióticas y, en concreto, las zonas afectadas por su desarrollo se están realizando diversos ensayos que combinan técnicas diferentes [10].

4.1. Análisis molecular

Este análisis tiene como objetivo la caracterización taxonómica mediante técnicas de biología molecular, basadas en la extracción de ácidos nucleicos [5]. La identificación de la especie seleccionada se realiza mediante la secuenciación de ADN genómico y/o de genes del ARN ribosómico [6]. Los genes se amplifican mediante PCR empleando distintos tipos de cebadores según la especie y a partir de los resultados obtenidos, se pueden construir genotecas para llevar a cabo estudios filogenéticos.

4.2. Técnicas microscópicas

Son técnicas ópticas capaces de proporcionar gran cantidad de información, entre las que destacan la microscopía estereoscópica, la microscopía electrónica de barrido y la de epifluorescencia. La primera, realiza un análisis sobre la estructura del organismo analizado y las consecuencias del biodeterioro [5]; la segunda, facilita información sobre la composición elemental de la muestra [6]; y la tercera, permite estudiar el grado de contaminación de las muestras, distinguir entre las activas y no activas o las células vivas y las muertas [4].

4.3. Fotogrametría

La fotogrametría permite, de una manera sencilla, el control de áreas colonizadas por microorganismos [3], creando mapas en los que se recogen la situación, tamaño y densidad de los biofilms. El estudio comparativo periódico de las capturas, permite procesar datos cuantitativos con precisión de micras, para determinar la evolución del biodeterioro y el grado de afección del soporte.

4.4. Aerobiología

Tiene como objetivo identificar los microorganismos presentes en el aire [7]. Para ello se emplean muestreadores que captan un determinado volumen de aire mediante dos sistemas diferentes en función de si el organismo es cultivable o no [6], empleando, de manera complementaria [5], técnicas de biología molecular.

4.5. Perfilometría

La perfilometría es una técnica basada la interferometría óptica, que emplea, a su vez, técnicas láser y perfilometría confocal [11]. Mide el índice de rugosidad del sustrato lítico en procesos de biodeterioro, a través de métodos con o sin contacto, para determinar la relación entre la rugosidad y la tasa de desarrollo de la biomasa.

4.6. Estudios microclimáticos

Consisten en el análisis de las constantes T^a , HR, CO_2 y radón (Rn) de la atmósfera subterránea con el fin de establecer el régimen de intercambio de aire de las distintas partes de la cueva [7]. Se realiza a través de un sistema de monitorización multi-paramétrico plurianual [8] que analiza el sistema atmósfera-suelo registrando valores medios en diferentes zonas que son comparados con las variables del exterior. Esto permite comprobar la conexión aerodinámica de la cueva, la dispersión de hidroaerosoles y los microorganismos del exterior.

4.7. Estudios de impacto sobre factores exógenos

El control de determinados agentes exógenos como la iluminación, puede ser esencial en la supervivencia de algunas especies. Así, se están realizando estudios sobre el impacto de distintas calidades espectrales sobre organismos fotosintéticos [12]. A través del sistema LED, que permite crear espectros de rendimiento fotónico diferente, se puede analizar la respuesta fisiológica por estrés, reducción de la actividad fotosintética o ralentización del crecimiento de organismos fotobiológicos y heterotróficos.

4.8. Estudio faunístico de la cueva

Tiene como objetivo abordar el estudio de macrofauna, mesofauna y microfauna de las cavidades y su repercusión en las comunidades bacterianas [7] [9]. El método se basa en la toma de muestras estandarizada, empleando trampas de captura con cebos orgánicos en zonas estratégicas. Los resultados permiten cuantificar las especies epigeas y su relación con el crecimiento de las poblaciones bacterianas y fúngicas en el interior de las cuevas.

5. CONCLUSIONES

El biodeterioro es uno de los factores de alteración exógenos que genera más preocupación en la conservación de cuevas visitables. Los estudios científicos permiten identificar la diversidad y fisiología de las comunidades microbiantas, establecer su biomasa y comprender su relación y efectos sobre el soporte rocoso. A partir de estos conocimientos y, partiendo de un enfoque eminentemente preventivo, se deben establecer medidas efectivas que permitan diseñar estrategias de seguimiento y control de las áreas afectadas.

Sin embargo, estas tareas dependen, en la mayor parte de las ocasiones, de organismos de gestión cuyas actuaciones pueden no responder a estas premisas, priorizando otros intereses como la difusión o la puesta en valor. Sería importante que ambos enfoques respondiesen a un interés común, para alcanzar el equilibrio necesario entre preservación y accesibilidad. En definitiva, una gestión sostenible que permita garantizar la conservación del patrimonio subterráneo.

REFERENCIAS

- [1] C. Sainz Jimenez, "Los microorganismos y las cuevas con pinturas rupestres", *Sautuola*, vol. XV, pp. 453-460, 2009.
- [2] I. Mael Rodríguez e I. Domingo Sanz, "Los problemas de conservación

del arte rupestre levantino: un estado de la cuestión", *Proceedings of the 3rd International Conference on Best Practices in World Heritage: Integral Actions*, Menorca, Spain, may 2018.

- [3] R. Ontañón Peredo, "Protección, conservación y gestión sostenible de las cuevas con arte rupestre en la Cornisa Cantábrica", *La Conservación del arte rupestre: Sostenibilidad e integración en el paisaje*, pp. 121-130, oct. 2013.
- [4] I. Arroyo, M.I. Sarró y J. Montero, "Peculiaridades del estudio y control del biodeterioro en cuevas con arte rupestre", *La Ciencia y el Arte*, vol. III, pp. 129-143, 2011.
- [5] V. Jurado y C. Sáiz-Jiménez, "Vida microbiana en las cavernas: el fascinante mundo de la biodiversidad subterránea y su papel en los procesos de deterioro". *Enseñanza de las Ciencias de la Tierra*, vol. 24.1, pp. 51-60, 2016.
- [6] E. Porca Belío, "Aerobiología de dispersión de los microorganismos en cuevas turísticas". Departamento de Geocología, Biogeoquímica y Microbiología Ambiental (IRNAS-CSIC), Universidad de Sevilla, 2011.
- [7] AAVV, *Programa de investigación para la conservación preventiva y régimen de acceso de la Cueva de Altamira (2012-2014)*, Informe final, Ministerio de Cultura, 2014.
- [8] S. Cuezva, et al., "Monitorización multiparamétrica de las medidas de conservación adoptadas para limitar la entrada y dispersión de microorganismos en la cueva de Altamira. Estudio y Conservación del Patrimonio Cultural", *Estudio y Conservación del Patrimonio Cultural*, pp. 5-8, nov 2015.
- [9] C. G. Luque y L. Labrada, "La fauna subterránea de las cuevas de Altamira. Consideraciones para la conservación del arte rupestre clasificado Patrimonio Mundial", *Boletín Real Sociedad Española de Historia Natural*, vol. 110, pp. 93-120, 2016.
- [10] Y. del Rosal Padiál et al., "Biofilms en cuevas turísticas: la Cueva de Nerja y la Cueva del Tesoro", *VI Congreso español de Cuevas Turísticas. El karst y el hombre: las cuevas como Patrimonio Mundial*, pp. 103-114, 2014.
- [11] A.Z. Miller et al., "Evaluación de la influencia de la rugosidad superficial sobre la colonización epilítica de calizas mediante técnicas sin contacto", *Materiales de Construcción*, vol. 62, 307, pp. 411-424, 2012.
- [12] F. Álvarez Gómez et al., "Selección de sistemas de iluminación LEDs en cuevas basado en los espectros de acción de la fotosíntesis: reducción del biodeterioro de espeleotemas por biofilms de algas y cianobacterias", *VI Congreso español de Cuevas Turísticas. El karst y el hombre: las cuevas como Patrimonio de la Humanidad*, pp. 71-79, 2016.



Eva M. Pereda Rosales es licenciada en Bellas Artes por la Universidad de Sevilla en el año 2000, con la especialidad de Conservación y Restauración de Obras de Arte. En la actualidad es técnico en restauración del Museo de Prehistoria y Arqueología de Cantabria y está cursando el máster de Diagnóstico del Estado de Conservación del Patrimonio en la Universidad Pablo de Olavide.