

MoleQla

MoleQla

MOLEQLA

MOLEQLA nº
4
6

Revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide



Portada

Juan José Gutiérrez Sevillano

Logotipo y Título de la revista

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

Plantilla de la revista

Norberto Díaz Díaz

Editores de las secciones

MoleQla Ambiental	- Ana Martín Calvo
MoleQla Energía	- Juan Antonio Anta Montalvo y Gerko Oskam
MoleQla Nutricional	- Gladys Margot Cahuana Macedo
MoleQla Patrimonio	- Rocío 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
MoleQla Química	- Patrick Merklng

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 28 de octubre de 2022

Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

EDITORIAL

Bienvenidos a un nuevo número de MoleQla. En esta edición otoñal nuestros autores nos acercan de nuevo a lo mejor de la ciencia actual en las secciones de Bio y Nanotecnologías, Ambiental, Farmacia e Informática.

Cuando las disciplinas científicas parecen haber quedado establecidas sobre bases que nos permiten extrapolar que ya queda poco por descubrir, “La Ciencia” siempre tiene el poder de sorprendernos y dejarnos sin aliento. Así, en los fondos de los océanos, donde se pensaba que las condiciones ambientales (falta de luz, de nutrientes y presiones elevadas) imposibilitaban la existencia de la vida, todo cambió con el descubrimiento de un ecosistema alrededor de una chimenea hidrotermal: Se descubrieron los organismos extremófilos, capaces de desarrollarse en condiciones muy alejadas de las que necesitan la inmensa mayoría de organismos, y esto tendría implicaciones profundas sobre nuestra valoración acerca de la posibilidad de vida extraterrestre, como se verá en un artículo de esta edición.

También trataremos el que es llamado a ser, a corto plazo, el tema de salud más preocupante en nuestros tiempos (Covid mediante): La resistencia microbiana a antibióticos, cuya solución podría hallarse en aproximaciones tan diversas como bacteriófagos o nanomateriales. Además, nuestros autores nos ilustran sobre prometedoras plataformas de transporte selectivo de fármacos.

En este número también destaca la controvertida situación de nuestras costas y, en este caso, la del Mar Menor.

Por otra parte, en la sección informática, dos de los desarrollos más emocionantes del momento son los ordenadores cuánticos y la inteligencia artificial. Combinarlos promete posibilidades sin límites. Os invito a descubrir el artículo que trata este tema.

Estos son solo algunos de los apasionantes artículos que encontraréis en la revista, por lo que os invitamos a sumergiros en este número.

Desde la redacción de MoleQla, los editores os deseamos una feliz lectura.



ÍNDICE

1. Moleq̃a Biotecnología

- 1.1. Desulfovibrio bacteria in blacksmokers
- 1.2. Análisis de la diferenciación del primordio ocular de D. melanogaster usando ibM.

2. Moleq̃a Nanotecnología

- 2.1. Nanopartículas metálicas como agentes microbicidas

3. Moleq̃a Ambiental

- 3.1. ¿Qué está pasando en el Mar Menor?
- 3.2. Descontaminación de aguas residuales mediante fotocátalisis

4. Moleq̃a Farmacia

- 4.1. Vacunas Orales, ¿el almuerzo del futuro?
- 4.2. Microalgas, inspiración de futuros fármacos
- 4.3. Bacteriófagos: la prometidora solución para la resistencia antimicrobiana
- 4.4. Membrana de glóbulos rojos como transportador de fármacos
- 4.5. Fármacos epigenéticos para el tratamiento de enfermedades en humanos

5. Moleq̃a Informática

- 5.1. Inteligencia Artificial en el ámbito de la Computación Cuántica
- 5.2. Control de Calidad y Pruebas Software
- 5.3. Introducción a los sistemas ERP
- 5.4. Blockchain y algoritmo de consenso Proof of Work
- 5.5. La Raspberry Pi 400 como herramienta básica de alfabetización digital

Desulfovibrio bacteria in blacksmokers

Jesús Lozano Sánchez, María Luque Jiménez,
Carmen López Domínguez, Carlos Luis Mozo Rivera

Abstract— In this article, we will examine the concept of chemotroph (sulfur-reducing and sulfur-oxidizing organisms) from a biological, chemical, and thermodynamic standpoint, as well as the interaction or adaptation that they experience under certain conditions, as in the case of *Desulfovibrio*. Simultaneously, we will examine its energy performance by using different systems to accept electrons (FADH instead of the more common NADH) and its response to specific agents.

Keywords - Chemotroph, *Desulfovibrio*, Sulfur oxidation/reduction, electron acceptor, 2,4-dinitrophenol (DNP), respiration (ATP).

1. INTRODUCTION

Desulfovibrio is a Gram-negative sulfate reducing bacteria, genus commonly found in aquatic environments with high levels of organic material, as well as in water-logged soils. They are major community members of extreme oligotrophic habitats such as deep granitic fractured rock aquifers.

Even though *Desulfovibrio* was long considered to be a strict anaerobe (like other sulfate-reducing bacteria), they can survive in aerobic environments. Nevertheless, in these O₂-rich environments their growth may be limited. Like other sulfate-reducing bacteria, *Desulfovibrio* was long considered to be obligately anaerobic. This is not strictly correct: while its growth may be limited, these bacteria can survive in O₂-rich environments. These types of bacteria are known

as aerotolerant.

Its unique location and shocking environment were revolutionary at the time it was discovered: the hydrothermal vents.

A hydrothermal vent is a fissure on the seafloor from which geothermally heated water pours. They are typically found around volcanically active locations, sites where tectonic plates are moving apart at spreading centers, ocean basins, and hotspots. Because the planet is both geologically active and contains a vast volume of water on its surface and beneath its crust, hydrothermal vents exist.

These bacteria take advantage of the fact that those vents generate landforms known as black smokers or white smokers, frequently housing complex ecosystems driven by the chemicals dissolved in the vents fluids.

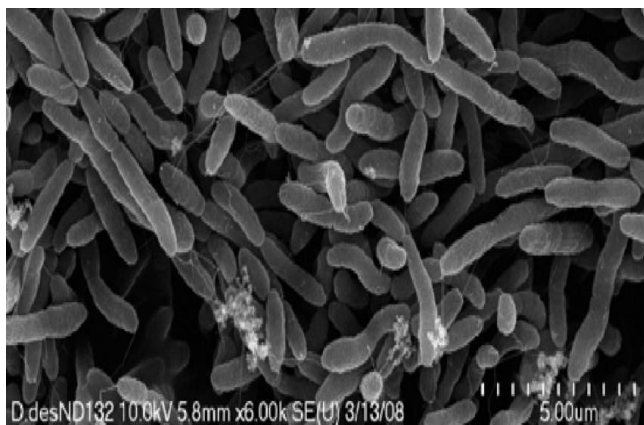


Figure 1: *Desulfovibrio* bacteria culture

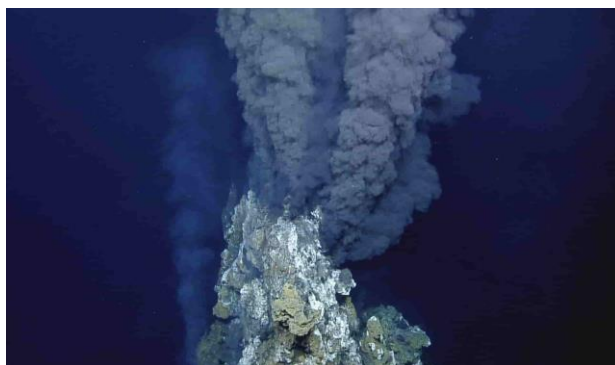


Figure 2: Hydrothermal vents

Among those ecosystems formed by this geological phenomenon, the most famous one is the symbiotic relation between giant tube worms, located next to the black smokers, and sulfur reductive/oxidative bacteria.



Figure 3: Giant Tube Worm

These worms (which can reach 2 meters length) form a symbiotic relation with sulfur oxidative bacteria. They use hollow spaces to allocate them and later provide S^{2-} (which comes from the black smokers). In exchange, organic matter is produced, and the worms use it for their growth.

As a result of this, SO_4^{2-} is exerted on the aquatic media. This is where *Desulfovibrio* steps into the equation: they take these compounds and reduce them, making this environment in some way a cycle.

2. Chemotroph organisms

Chemotrophs use oxidized electron donors to transport electrons into respiratory chains, where ATP is produced.

Chemotrophs are organisms that obtain energy by oxidizing electron donors in their environment. These molecules might be organic (chemoorganotrophs) or inorganic (chemolithotrophs).

Chemolithotroph organisms acquire reducing equivalents from inorganic substrates (usually mineral) for its use in biosynthesis (for example, carbon dioxide fixation) or energy conservation via aerobic or anaerobic respiration. Only microbes are known chemolithotrophs; no known macrofauna can use inorganic compounds as energy sources.

However, it is possible for macrofauna and lithotrophs to form symbiotic relationships, in which case the lithotrophs are referred to as "prokaryotic symbionts". That is the case of chemolithotrophic bacteria in deep sea worms. Chemolithotroph bacteria in deep sea worms are instances of this, as are plastids, plant cell organelles that may have evolved from photolithotrophic cyanobacteria-like creatures.

Phototrophs, on the other hand, are not chemotrophs since they consume sun energy.

Chemotrophs can be either autotrophs or heterotrophs. Chemoautotrophs include methanogens, halophiles, sulfur oxidizers and reducers, nitrifiers, anammox bacteria, and thermoacidophiles. *Thiomicrospira crunogena*, an example of extraordinarily rapid chemolithotroph growth.

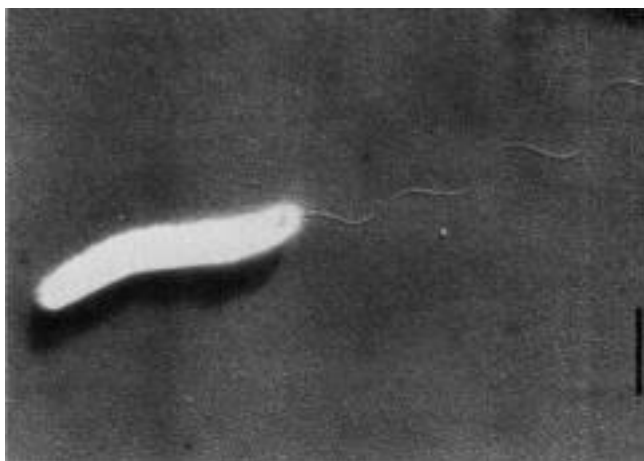


Figure 4: *Thiomicrospira crunogena* bacteria

2.1 Oxidation or reduction of sulfur compounds

2.1.1 Sulfur Oxidation

The process of turning reduced sulfur compounds, inorganic sulfur, and thiosulfate into sulfuric acid is known as sulfur oxidation.

Sulfur is an essential component of all living things and is commonly employed in metabolic activities. These compounds are used as both fuels and respiratory (oxygen-alternative) materials in basic organisms' metabolic operations. It is required for the formation of

several enzymes and antioxidant compounds, such as glutathione and thioredoxin.

Its oxidation is the process of converting reduced sulfur molecules such as sulfide (H_2S), inorganic sulfur (S^0) and thiosulfate ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) into sulfuric acid (H_2SO_4). A great example of sulfur oxidizing bacteria is the *Paracoccus denitrificans*.

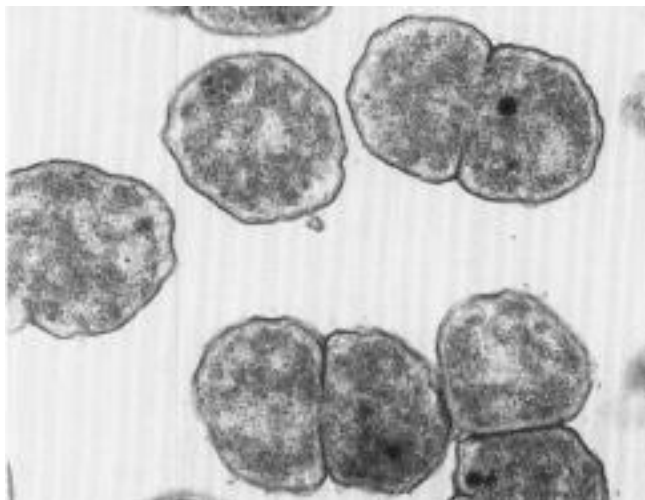


Figure 5: *Paracoccus denitrificans*

In general, sulfide oxidation takes place in phases, with inorganic sulfur stored either inside or outside the cell (in the form of granules) until it is needed. In terms of efficiency, the fact that sulfide is a better electron donor than inorganic sulfur or thiosulfate, allows more protons to be translocated across the membrane in two stages. Furthermore, reverse electron flow is used by sulfur-oxidizing organisms to provide reducing power to carbon dioxide fixation via the Calvin cycle -an energy demanding process that drives electrons against their thermodynamic gradient to make NADH. The enzyme sulfide oxidase biochemically converts reduced sulfur molecules to sulfite (SO_3^{2-}) and ultimately to sulfate (SO_4^{2-}). Some species, however, accomplish the same oxidation by inverting the APS reductase mechanism utilized by sulfur-reducing bacteria.

The released energy is always transported to the electron transport chain for the synthesis of ATP and NADH. *Thiobacillus denitrificans*, for example, uses nitrate (NO_3^-) as a terminal electron acceptor and hence grows anaerobically in addition to aerobic sulfur oxidation.

2.1.2 Sulfur oxidation

Sulfur reduction happens to be the other way around. Organisms that perform this kind of metabolism use, for example, H_2 , as an electron donor and reduce oxidized sulfur compounds, like sulfite (SO_3^{2-}) or sulfate (SO_4^{2-}) into inorganic sulfur (S^0), thiosulfate ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) and ultimately into sulfuric acid (H_2SO_4). A great representative of this kind of bacterium is *Desulfovibrio*, as it was previously mentioned.

Sulfur-reducing bacteria are thought to be among the earliest kinds of microbes, having contributed to the sulfur cycle shortly after life appeared on Earth 3.5 billion years ago.

Many organisms reduce small amounts of sulfates in order to synthesize sulfur-containing cell components; this is known as assimilatory sulfate reduction. By contrast, the sulfate reducing microorganisms considered here reduce sulfate in large amounts to obtain energy and expel the resulting sulfide as waste; this is known as dissimilatory sulfate reduction. Later on, this compound will be used by sulfur-oxidizing bacterium.

3. Conclusion

Desulfovibrio is nothing else than other example of the amazing and shocking phenomena nature provides. The adaptability of organisms to live in these environments is even difficult to believe. Deep-sea floor is one of the great mysteries science yet has to uncover. *Desulfovibrio* might take advantage of the compounds expelled by the black smokers but an entire world of possibilities are waiting down there hoping to be discovered and just imagining the progress they will bring to the scientific community is overwhelming.

4. References

- [1] Amrani, A., Bergon, A., Holota, H., Tamburini, C., Garel, M., Ollivier, B., Imbert, J., Dolla, A., & Pradel, N. (2014). Transcriptomics Reveal Several Gene Expression Patterns in the Piezophile *Desulfovibrio hydrothermalis* in Response to Hydrostatic Pressure. *PLOS ONE*, 9(9), e106831. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106831>
- [2] Rabus, R., Venceslau, S. S., Wöhlbrand, L., Voordouw, G., Wall, J. D., & Pereira, I. A. C. (2015). A Post-Genomic View of the Ecophysiology, Catabolism and Biotechnological Relevance of Sulphate Reducing Prokaryotes. *Advances in Microbial Physiology*, 66, 55–321. <https://doi.org/10.1016/BS.AMPBS.2015.05>
- [3] Weiss, R. E., & Refetoff, S. (2015). Thyroid Function Testing. *Endocrinology: Adult and Pediatric*, 2–2, 1350-1398.e11. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-189071.00078-0>
- [4] Grundlingh, J., Dargan, P. I., El-Zanfaly, M., & Wood, D. M. (2011). 2,4-dinitrophenol (DNP): a weight loss agent with significant acute toxicity and risk of death. *Journal of Medical Toxicology*, 7(3), 205–212. <https://doi.org/10.1007/s13181-011-0162-6>
- [5] Zotta, T., Parente, E., & Ricciardi, A. (2017). Aerobic metabolism in the genus *Lactobacillus*: impact on stress response and potential applications in the food industry. *Journal of Applied Microbiology*, 122(4), 857–869. <https://doi.org/10.1111/jam.13399>
- [6] Muyzer, G., & Stams, A. J. M. (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Reviews. Microbiology*, 6(6), 441–454. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1892>
- [7] Monachon, M., Albelda-Berenguer, M., & Joseph, E. (2019). Biological oxidation of iron sulfides. *Advances in Applied Microbiology*, 107, 1–27. <https://doi.org/10.1016/BS.AAMBS.2018.12.002>
- [8] *RESPIRACIÓN Y FOTOSÍNTESIS - ppt descargar*. (n.d.). Retrieved February 20, 2022, from <https://slideplayer.es/slide/132522/>
- [9] *Chemolithotrophy | Boundless Microbiology*. (n.d.). Retrieved February 20, 2022, from <https://courses.lumenlearning.com/boundless-microbiology/chapter/chemolithotrophy/>
- [10] Enrich-Prast, A., Bastviken, D., Crill, P., Santoro, A. L., Signori, C. N., & Sanseverino, A. M. (2014). Chemosynthesis. *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-4095489.09054-0>
- [11] Kelly, D. P. (1981). Introduction to the Chemolithotrophic Bacteria. *The Prokaryotes*, 997–1004. https://doi.org/10.1007/978-3-662-13187-9_79

Análisis de la diferenciación del primordio ocular de *D. melanogaster* usando ibM.

Iván Gutiérrez Bombín

Resumen—El primordio ocular de *D. melanogaster* es un buen modelo para el estudio del desarrollo de órganos. Su modelización en un modelo basado en el individuo, por sus siglas en inglés ibM, puede aportarnos datos acerca de su desarrollo. Por esta razón, F.J. Lobo-Cabrera et al. realizaron un modelo matemático y un ibM sobre el crecimiento y diferenciación del primordio ocular de *D. melanogaster* tomando la velocidad de crecimiento celular como constante. Sin embargo, otros trabajos más recientes han señalado que la dilución de la citoquina Unpaired (Upd) durante el desarrollo del primordio ocular provoca la disminución de la velocidad de crecimiento celular conforme aumenta el área del primordio. En este artículo se ha comprobado como este fenómeno afecta a los resultados del ibM de F.J. Lobo-Cabrera et al.. Analizaremos las relaciones que se producen entre la biomasa, tiempo de diferenciación y forma final de los órganos con un parámetro que engloba la velocidad de crecimiento celular, la velocidad de diferenciación y la anchura inicial del primordio. Se ha observado que los resultados obtenidos son más acordes a las funciones universales del modelo matemático de F.J. Lobo-cabrera et al. y que la forma del ojo final tiende a ser menos elíptica que cuando se usa el ibM donde la velocidad de crecimiento celular es constante. En definitiva, podemos concluir que el mecanismo de dilución del Upd tiene un efecto notable sobre el tamaño, tiempo de diferenciación y forma final del ojo.

Palabras Claves— ibM, Simulación, Disco Imaginal, *D. melanogaster*, Primordio ocular.

1. INTRODUCCIÓN

La forma y el tamaño son dos propiedades determinantes en los órganos para su correcto funcionamiento. A pesar de su importancia, aún no se conocen del todo los mecanismos y procesos que controlan estas dos magnitudes. Por tanto, su estudio puede aportarnos datos relevantes acerca de los procesos de diferenciación y desarrollo de órganos, así como información aplicable a otras disciplinas como la biología celular o la biomedicina [1]. Uno de los modelos más usados para llevar a cabo esta tarea son los discos imaginales de *D. melanogaster*. Los discos imaginales son una serie de masa de células indiferenciadas, bien localizadas, que darán lugar a la mayoría de las estructuras externas de la mosca [2].

Últimamente, el primordio ocular, que forma parte del disco imaginal antena-ojo, ha llamado la atención. Este interés es principalmente debido a que su diferenciación da lugar a uno de los tipos de ojos más comunes en la naturaleza, el ojo compuesto [3]. La diferenciación del primordio ocular está marcada por el avance del surco morfogénico (MF). El MF es un frente que avanza desde el polo anterior hacia el posterior del primordio ocular. Este delimita la zona de las células que están diferenciadas de la zona de las que no lo están. La velocidad con la que avanza el MF y la velocidad de crecimiento celular son dos parámetros que influyen mucho en el tamaño y forma del ojo final [4]. Se ha observado que la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo conforme aumenta el tamaño del primordio [5]. Algunos autores han propuesto que este fenómeno está causado por la dilución de la citoquina Unpaired (Upd). Esta citoquina no se sintetiza durante el proceso de diferenciación del ojo, por lo que se va diluyendo conforme aumenta el tamaño del primordio. Además, al favorecer la división celular, su dilución causa una disminución de la velocidad de crecimiento celular [1].

La modelización computacional puede ser una buena herramienta para el estudio del proceso de diferenciación del primordio ocular. Esta nos permite la simulación y el estudio de sistemas complejos mediante el uso de técnicas matemáticas, físicas e informáticas. Los modelos computacionales están formados por numerosas variables que definen el sistema en estudio. En la modelización computacional de biosistemas, destaca el uso de modelos basados en el individuo, por sus siglas en inglés, ibM (individual-based model) [6]. Estos son modelos cuyas variables son discretas en el tiempo y el espacio. Es decir, el avance del tiempo es por saltos, y las variables solo quedan definidas en las entidades que conforman el sistema [7].

En un artículo reciente de F. J. Lobo Cabrera et al. [3], se desarrolla un ibM del crecimiento y diferenciación del primordio ocular de *D. melanogaster*. Este ibM lo comparan con un modelo matemático del mismo proceso y datos experimentales de otros artículos. Su objetivo fue evaluar el ibM y obtener información relevante del proceso de diferenciación. El ibM resultó ser efectivo cuando el primordio tiene una forma inicial circular, pero no cuando la forma es elipsoide. Un problema que parece presentar este ibM es que se simplificó de tal manera que la velocidad de crecimiento celular fuera constante. Como se comentó anteriormente, se ha observado que esta velocidad disminuye conforme aumenta el tamaño del primordio. En este artículo veremos cual es el efecto que provoca esta disminución de la velocidad de crecimiento celular. Para su evaluación se realizará un análisis estadístico de la biomasa, tiempo de diferenciación y forma final del ojo de *D. melanogaster*. El objetivo de esto es ver cómo influye la disminución de la velocidad de crecimiento celular en la forma y tamaño final del ojo y analizar cómo actúa el mecanismo de dilución de Upd.

2. METODOLOGÍA

El ibM del proceso de diferenciación ocular usado es muy similar a aquel usado en el artículo de F. J. Lobo-Cabrera et

al. [3]. La diferencia es que en este ibM la velocidad de crecimiento celular ira disminuyendo conforme aumente el tamaño del primordio ocular.

Las células que conforman el primordio serán modeladas como proyecciones individuales bidimensionales de esferocilindros. Estos están conformados por dos semiesferas en los extremos de diámetro σ y un cilindro central de una longitud variable L . La longitud total de una célula será de C y equivaldría a $\sigma+L$. Estas medidas se muestran en la figura 1.

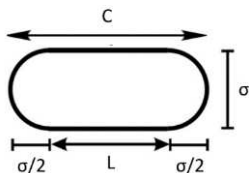


Fig. 1. Esquema de la célula en la simulación con sus medidas.

La longitud inicial de las células, C_0 , será muy cercana a (σ), $C_0 = 10^9$. Al alcanzar una longitud equivalente al doble de la inicial ($C_t = 2C_0$), la célula se dividirá en dos cuasi-círculos C_0 . El crecimiento celular es simulado mediante el aumento de L . Este aumento será lineal con respecto al tiempo (t). La ecuación que define el crecimiento sería la siguiente:

$$L(t) = L_0 + V_{gt}^i \cdot (t - t_0) \quad (1)$$

donde t_0 es el tiempo en el que se inició el ciclo celular y V_{gt}^i es la velocidad de crecimiento de la célula sobre la que se aplica la ecuación en un momento dado.

Al inicio del ciclo celular se asigna a cada célula, de manera aleatoria, una velocidad de crecimiento inicial (V_{gt}^i) de una distribución normal de valores de media V_g y desviación estándar $s/V_g = 0.1$. V_g es una variable que es indicada antes de iniciar la simulación. Con el fin de simular la disminución de la actividad proliferativa el valor de V_{gt}^i se va corrigiendo en cada paso de tiempo de la simulación de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$V_{gt}^i = V_{g0}^i \frac{B_0}{B_t} \quad (2)$$

en donde B_0 es la biomasa inicial del primordio y B_t es la biomasa del primordio en un momento dado. La biomasa es calculada de acuerdo al número total de células (n), a partir de la siguiente ecuación:

$$B_t = \sum_{i=1}^n (L_i + \sigma) \quad (3)$$

El frente del MF es simulado como una línea vertical que recorre el primordio a una velocidad V_{Fr} desde un extremo al otro. Las células que pasan por la línea MF pasaran a estar "diferenciadas". Esto implica que la célula se dividirá por una última vez en dos células que mantendrá su tamaño y forma durante toda la simulación. La simulación finalizará una vez todas las células que conforman el primordio se hayan diferenciado y terminado su último ciclo celular. Si estas dos condiciones no se cumplen antes de alcanzar el primordio las 5000 células, se considerará que el proceso de diferenciación no ha terminado para un V_{Fr} y un V_g determinado.

Durante el desarrollo del primordio las células pueden verse expuestas a distintas fuerzas que provocan cambios en su posición u orientación. En la simulación tendremos en cuenta las producidas por las interacciones intercelulares y por la agitación térmica de las moléculas

del entorno. Las interacciones intercelulares serán simuladas de acuerdo al potencial de Kihara [8]. De acuerdo a este potencial si las células están cerca se producen fuerzas de atracción, si están demasiado cerca se producirían de repulsión. Los cambios producidos por los choques de moléculas por la agitación térmica de estas serán simulados mediante el uso de la dinámica browniana. En la dinámica browniana las trayectorias de las células se obtendrían mediante la integración de la ecuación de Langevin con respecto al tiempo [9].

El primordio inicial se genera antes del inicio de la simulación. Este se selecciona de un clúster de 4000 células de longitud C_0 . Del clúster se selecciona una región con el número de células y forma deseado. Para este trabajo se seleccionaron 3 primordios distintos de 200 células. Para caracterizarlos hemos establecidos estos según la relación de sus diámetros en el eje anterior-posterior (X) y el eje dorso-ventral (Y). Los primordios que se muestran en la figura 2 en concreto fueron: de forma circular ($X/Y = 1$), de forma de prolato ($X/Y = 0.5$) y de forma de oblato ($X/Y = 2$).

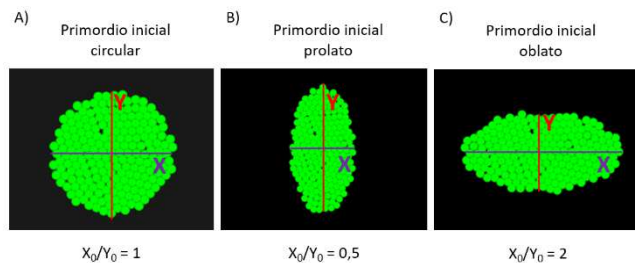


Fig. 2. Fotografías del primordio inicial A) circular; B) prolato; y C) oblato.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las ibM se alteran algunas variables para observar los cambios que se producen en los resultados de la simulación. En este trabajo las variables que se han ido modificando han sido la velocidad de crecimiento celular inicial (V_g) y la velocidad con la que avanza el frente del MF (V_{Fr}). También y como se indicó anteriormente, se ha variado la forma inicial del primordio.

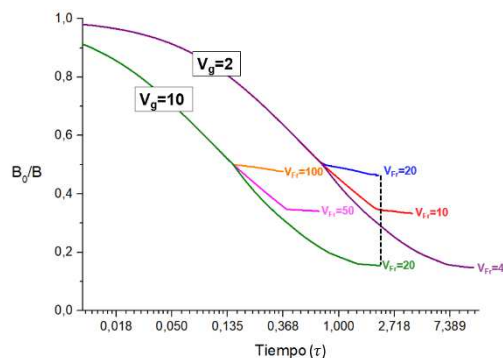


Fig. 3. Variación de B_0/B_t con respecto al tiempo para distintos casos de V_g y V_{Fr} .

La disminución de la velocidad de crecimiento celular durante el proceso de diferenciación viene representada en la figura 3. En la gráfica se ha representado la relación B_0/B_t (ver ecuación 2) con respecto al tiempo de la simulación, cuya unidad es τ . En la figura observamos que los procesos de diferenciación más rápidos corresponden a aquellos que se han producido con una V_{Fr} más grande. También podemos comprobar que cuanto mayor sea V_g , más rápido va disminuyendo la velocidad de crecimiento celular. Esto puede ser debido al hecho de que como el primordio ocular crece más rápido, la disminución de la velocidad de crecimiento celular se produce de manera más acelerada.

Es interesante el hecho de que a distinta V_g y misma V_{Fr} , el proceso de diferenciación parece terminar al mismo tiempo.

La velocidad a la que han crecido las células durante el proceso de diferenciación sería la velocidad de crecimiento celular promedio (V_{gM}). Teniendo en cuenta el área debajo de la curva B_0/B_t en función de τ , podemos calcular V_{gM} con la siguiente ecuación:

$$V_{gM} = \frac{V_g}{t_f} \cdot \int_0^{t_f} \frac{B_0}{B_t} dt \quad (4)$$

donde t_f es el tiempo que tarda el primordio en diferenciarse. Con el fin de usarlo en análisis posteriores, se calcularon las V_{gM} de un primordio circular a $V_g=6$ para distintas V_{Fr} .

Uno de los objetivos del análisis ibM era averiguar la V_{Fr} límite (V_{FrL}) en la que el proceso de diferenciación simulado no termina para distintos V_g . Estos análisis se llevaron a cabo con un primordio inicialmente circular. Si la velocidad de crecimiento celular es muy grande y/o la V_{Fr} es demasiado baja, el MF jamás alcanzaría el polo opuesto del primordio. Sin embargo, hay que tener en cuenta que según la ecuación 2, si la biomasa del primordio llega a ser muy grande la velocidad de crecimiento celular es aproximadamente 0. Esto implica que, si se simula el proceso de diferenciación durante un tiempo muy largo, todas las simulaciones tenderían a terminar. En el contexto de *D.melanogaster*, el primordio debería alcanzar tiempos de desarrollo y tamaños irrealistas en caso de que se de esa situación. Por ese motivo, en el ibM presente en este artículo se fijó un límite en las células que puede albergar un primordio de 5000. A partir de este límite se dan relaciones entre el tamaño del órgano final y el tiempo de diferenciación del primordio con respecto a la velocidad de crecimiento celular y de avance del MF irrealistas. Cuando se alcanzan las 5000 células en el primordio, y aún queden células completando su último ciclo celular o que estén diferenciándose, la simulación concluirá, pero el proceso de diferenciación se dará por no finalizado, esto se observa en la figura 4. Evidentemente, en caso de que la velocidad de crecimiento celular se mantenga constante, sí que se dan los casos donde las simulaciones no terminan. Por último, debido a que en la simulación intervienen factores estocásticos estas se confirmaron repitiéndose 3 veces.

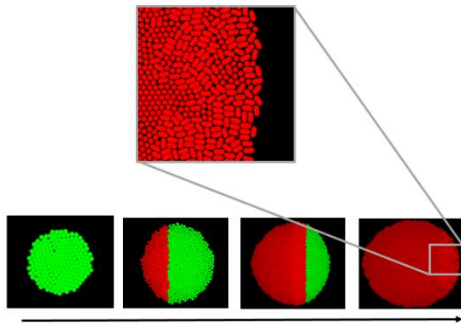


Fig. 4. Simulación del proceso de diferenciación de un primordio circular a $V_g = 6$ y $V_{Fr} = 4,5$ cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo. Nótese que aún quedan células diferenciadas que están completando su último ciclo celular al llegar a las 5000 células.

En la figura 5 vienen representado tanto los resultados cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo como cuando se mantiene constante. Hay que tener en cuenta que las anchuras iniciales (X_0) de los primordios de un caso son distintas a la de los primordios del otro. Cuando la velocidad de crecimiento celular es

constante, X_0 es 14.7 y cuando no lo es, X_0 es 13.3. La diferencia en X_0 es debida a que los datos cuando la velocidad celular es constante son tomados directamente del trabajo de F.J. Lobo-Cabrera. La recta de V_{FrL} en función de V_g sería una recta teórica que pasa entre los valores máximos donde la simulación no termina y los valores mínimos donde si termina. La imagen muestra que los valores de V_{FrL} aumentan linealmente con respecto al valor de V_g . Esto es lógico pues a mayores velocidades de crecimiento celular mayores velocidades debe tomar el MF para alcanzar el polo opuesto. En ese sentido los resultados son acordes a aquellos derivados del trabajo de F. J Lobo-Cabrera et al. [3] cuando la velocidad de crecimiento celular es constante. A pesar de ello, las V_{FrL} cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo son menores que cuando se mantiene constante. Esto es debido a que como la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo, es más fácil que el MF alcance el polo opuesto del primordio. Como resultado, se necesitan velocidades de avance del MF más pequeñas.

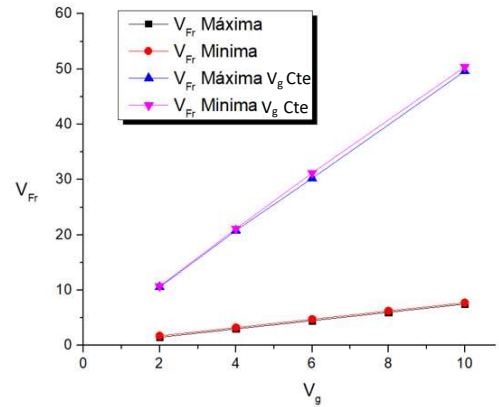


Fig. 5. Variación del valor mínimo de V_{Fr} donde la simulación termina (en rojo y magenta) y del valor máximo de V_{Fr} donde no termina (en negro y azul) con respecto a V_g . Los colores rojo y negro corresponde a las simulaciones donde la velocidad de crecimiento celular disminuye conforme a la biomasa. Los colores magenta y azul cuando la velocidad de crecimiento celular es constante

Sin embargo, las rectas de V_{FrL} muestran pendientes distintas. Cuando la velocidad de crecimiento celular es constante la pendiente es mayor que cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo. Según el modelo matemático del artículo de F.J. Lobo-Cabrera et al. [3], podemos obtener una función que muestre la relación lineal entre V_{FrL} y V_g :

$$V_{FrL} = \frac{\ln(2) \cdot X_0}{2\sigma} \cdot V_g \quad (5)$$

donde σ es el diámetro del extremo hemisférico de las células que componen el primordio. En los casos donde la velocidad de crecimiento celular es constante, la pendiente esperada sería de 5.09. Esta pendiente teórica es similar a la que se obtiene por las ibM que es en torno a 5. En los casos donde la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo, la pendiente esperada es de 4.6. En este caso, la pendiente teórica es mayor que la que se obtiene del ibM, en torno a 0.75. En este aspecto, el modelo matemático desarrollado en el artículo de F. J. Lobo-Cabrera et al. [3] no parece cumplirse cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo. Este fenómeno provoca que la influencia de la velocidad de crecimiento celular en la V_{FrL} disminuya. De hecho, si no hubiéramos puesto límite máximo de células que pudiera tener un primordio, la influencia sería prácticamente nula. La reducción de la

velocidad de crecimiento celular conforme aumenta la biomasa del primordio parece facilitar la finalización del proceso de diferenciación del primordio ocular.

Posteriormente se realizaron simulaciones a distintas V_g para cuando estas van disminuyendo y a una V_g constante de 6 con primordios de forma circular. También se realizaron simulaciones con primordios con forma de oblato y de prolato a una $V_g = 6$ que van disminuyendo conforme aumenta la biomasa con el objetivo de observar el impacto de la forma inicial en los parámetros del ojo final. Por último, compararemos los resultados obtenidos con aquellos del trabajo de F.J. Lobo-Cabrera et al. [3]. Para todo ello, primero se analizarán las relaciones que se producen entre biomasa, tiempo de diferenciación y la forma final del órgano con respecto a V_{Fr} . Para eso, utilizaremos el modelo matemático del trabajo de F. J. Lobo-Cabrera et al. [3], ya que en él se relacionan biomasa y tiempo de diferenciación con una variable que engloba, V_g , V_{Fr} y X_0 . La variable en cuestión es F/X_0 , donde F es otra variable que equivale a:

$$F = \frac{V_{Fr}}{k} \quad (6)$$

donde k es la constante cinética del crecimiento celular. Teniendo en cuenta que la división celular sigue una cinética de primer orden y de que el tiempo para doblar la población es el tiempo de división, k puede definirse como:

$$k = \frac{\ln(2) \cdot V_g}{\sigma} \quad (7)$$

A partir de las dinámicas de crecimiento y diferenciación celular del primordio ocular, el modelo matemático propone una función universal. Esta función relaciona el tiempo de diferenciación del primordio (t_f) y k con el parámetro F/X_0 . La función resultante sería la siguiente:

$$t_f \cdot k = 2 \cdot \ln \left[\frac{2\tilde{F}}{2\tilde{F} - 1} \right] \quad (8)$$

donde \tilde{F} es F/X_0 que es escrito así en el modelo para guardar consistencia con otros modelos matemáticos de otros trabajos. A partir de esta ecuación, el modelo matemático llega a otra función universal. En este caso la función define el comportamiento de la biomasa relativa del primordio en función de F/X_0 :

$$\frac{B_f}{B_0} = \frac{2\tilde{F}}{2\tilde{F} - 1} \quad (9)$$

donde B_f es la biomasa final del ojo y B_0 es la biomasa inicial del primordio. Estas dos funciones se tendrán en cuenta a la hora de representar los resultados del tiempo de diferenciación y biomasa total del primordio ocular. Para evitar confusiones se usará F/X_0 en vez de \tilde{F} .

La figura 6 muestra los resultados obtenidos acerca del tiempo de diferenciación de distintos casos que se diferencian según la forma inicial de primordio o la velocidad de crecimiento celular. En la gráfica observamos como los valores de $t_f \cdot k$ son mayores conforme disminuye F/X_0 . En un mismo caso, los valores bajos de F/X_0 corresponden a valores bajos de V_{Fr} puesto que tanto k como V_g se mantienen constantes. El aumento del tiempo de diferenciación a valores bajos de F/X_0 es esperable, pues cuanto más lento avance el MF, más tarda el ojo en diferenciarse.

En la figura 7 se observan los resultados obtenidos de la cantidad de biomasa final relativa del ojo para distintos casos. Como en la figura anterior, cuanto más pequeño sea

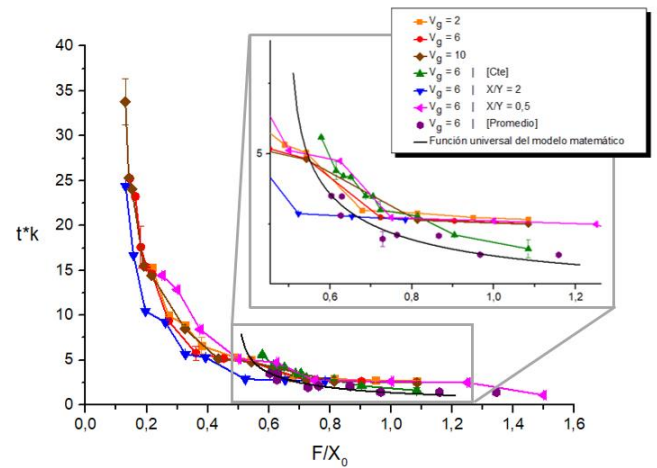


Fig. 6. Representación de $t_f \cdot k$ en función de F/X_0 obtenidas por simulación computacional cuando la velocidad de crecimiento celular se mantiene constante con un primordio inicial circular a $V_g=6$ (en verde) y para cuando disminuye conforme aumenta la biomasa con un primordio inicial circular a $V_g=2$ (en naranja), 6 (en rojo) y 10 (en marrón); con un primordio oblato a $V_g=6$ (en azul); y con un primordio prolato a una $V_g=6$ (en magenta). También se han representado los resultados teniendo en cuenta la velocidad de crecimiento celular promedio cuando el primordio es circular y $V_g=6$ (en púrpura) y por último se representó la función universal (en negro).

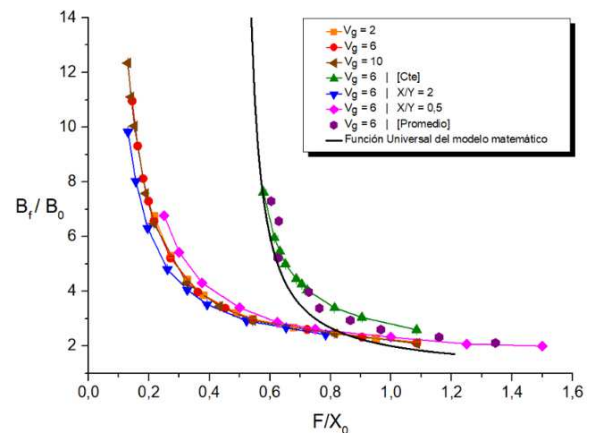


Fig. 7. Resultados de B_f/B_0 en función de F/X_0 . El patrón de colores seguido es el mismo que en la figura 6.

F/X_0 , mayor es el valor de B_f/B_0 . La explicación es parecida que en el anterior caso. Una menor F/X_0 implica una menor V_{Fr} . Cuanto menor sea la V_{Fr} más tiempo tarda en completarse el proceso de diferenciación, y por tanto más tiempo se le da al primordio para crecer.

A pesar de las similitudes que presentan ambas gráficas, se observa que las curvas de la figura 7 están mejor definidas que las de la figura 6. Este hecho se da también en el artículo de F. J. Lobo-Cabrera et al., donde las curvas referidas a la biomasa del primordio estaban mejor definidas que las del tiempo de diferenciación. En ambos casos se puede observar que conforme F/X_0 es más bajo, el aumento de $t_f \cdot k$ y B_f/B_0 es más asintótico. Esto ocurre tanto cuando la velocidad de crecimiento celular es constante como cuando no. Cuando la velocidad de crecimiento celular es constante, la asíntota se muestra en torno a $F/X_0 = 0.5$. Cuando la velocidad de crecimiento celular no es constante la asíntota parece mostrarse en torno a $F/X_0 = 0.05$. Sin embargo, si no tuviéramos en cuenta el límite de células y siguiéramos haciendo simulaciones a F/X_0 más bajas, es probable que la asíntota se encontrase en $F/X_0 = 0$. Aun así, se tratarían de tiempos de diferenciación tan grandes que serían inviables para la mosca.

La representación gráfica de las funciones universales 8 y 9 muestran una asíntota en $F/X_0 = 0.5$ similar a la asíntota que se muestra cuando la velocidad de crecimiento celular es constante. Sin embargo, esta difiere de la asíntota cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo. Esto nos puede llevar a pensar que el modelo matemático no se cumple cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo conforme aumenta la biomasa. Si en vez de usar V_g para representar los resultados se usa V_{gM} podemos comprobar que el comportamiento asíntótico se muestra en torno a 0.5. El modelo matemático parece ser correcto cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo solo si se tiene en cuenta la velocidad de crecimiento celular promedio y no la inicial. Aunque al usar los promedios las curvas sean más acordes a la función universal, también son más difíciles de analizar. Esto es debido a que, usando los promedios, cada variación de la variable F/X_0 no es solo provocada por V_{Fr} sino también por V_g y k . Por ello en este trabajo se siguió trabajando en torno al parámetro de V_g .

Cuando se cambia la forma del primordio las curvas de resultados se muestran desplazadas. Cuando el primordio es inicialmente prolato, la curva se muestra ligeramente hacia la derecha respecto a las curvas de los primordios circulares. Cuando es oblató, la curva se muestra desplazada ligeramente a la izquierda. Teniendo en cuenta el modelo matemático, esto nos indica que cuando el primordio es inicialmente prolato los tiempos de diferenciación son mayores de los esperados, mientras que cuando es oblató, los tiempos son menores.

En el trabajo de F.J Lobo-Cabrera et al. [3] (donde la velocidad de crecimiento celular es constante) también se producen diferencias entre las curvas al cambiar la forma inicial del primordio. Según el mismo trabajo las diferencias que se dan son causadas por una distribución asimétrica de las fuerzas que experimentalmente las células del primordio. De esta manera, cuando el primordio es oblató predominan las fuerzas verticales y cuando es prolato las horizontales. La diferencia de fuerzas provoca una reorganización de las células que provoca cambios en la anchura del primordio. Puesto que el modelo matemático no tiene en cuenta este fenómeno, esto provoca que los primordios con formas distintas a la circular acaben antes o después de lo esperado.

Sin embargo, en el trabajo de F.J. Lobo-Cabrera et al. [3] las diferencias que se dan entre las curvas son mucho mayores que cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo. De hecho, cambios en la V_g cuando la velocidad de crecimiento celular es constante, ya provoca pequeños cambios en las curvas de su trabajo. Cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo, las diferencias que se observan entre las curvas son: nulas cuando se cambia V_g , y pequeñas cuando se cambia la forma inicial del primordio. Esas pequeñas diferencias parecen estar causadas por esa distribución asimétrica inicial de fuerzas. Aun así, este mecanismo parece favorecer que se siga el modelo matemático planteado por F.J. Lobo-Cabrera et al. [3] (usando las velocidades de crecimiento celular promedio), ya que reduce las diferencias que se producen cuando se cambian algunos parámetros.

El mecanismo de dilución de Upd, al causar la disminución de la velocidad de crecimiento celular del primordio, vuelve más rígido el proceso de diferenciación del ojo de la mosca. De esta manera hay una consistencia entre los parámetros del ojo para una misma especie. Sin embargo, el comportamiento asíntótico de las curvas indica

que mantiene una cierta flexibilidad en la variación morfológica del órgano. Esta flexibilidad es necesaria para que se siga dando el proceso evolutivo.

El modelo matemático de F. J. Lobo-Cabrera et al. [3] se realizó sin tener en cuenta la forma del primordio ocular. Esto implica que no hay una función universal que nos compare la forma final del órgano con F/X_0 . Es por ello que, a la hora de analizar la forma final, veremos la relación que se produce al representar gráficamente la relación de las anchuras finales del eje anterior-posterior (X) y el eje dorso-ventral (Y) con respecto a F/X_0 . Con ello veremos las implicaciones del cambio de V_g , V_{Fr} y la forma inicial del primordio en la forma final del ojo.

En la figura 8 vienen representados los resultados obtenidos. De acuerdo a la gráfica, cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo y el primordio tiene forma circular, el órgano final es circular con una ligera tendencia a ser oblató. De manera opuesta, cuando la velocidad de crecimiento celular se mantiene constante, a medida que F/X_0 va bajando el ojo final es cada vez más oblató.

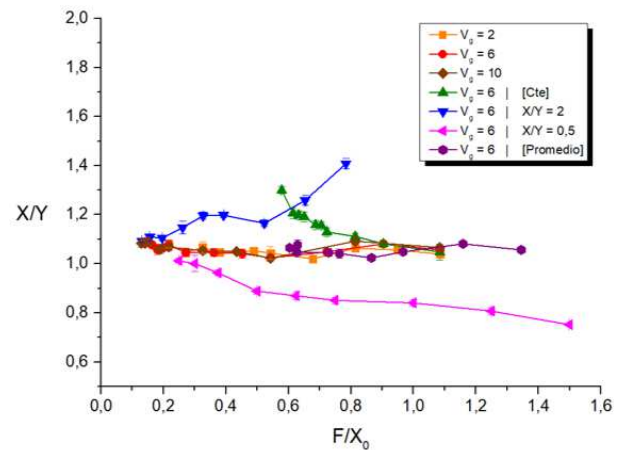


Fig. 8. Representación de X/Y final en función de F/X_0 . El patrón de colores es el mismo que figura 6.

Cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo y la forma inicial del ojo es elíptica, la forma final no se muestra constante en todo F/X_0 . En el caso del oblató, el órgano final sigue siendo oblató, pero con una X/Y más pequeña. Esta relación va disminuyendo a medida que F/X_0 es más pequeña, llegándose a igualar con los casos cuando la forma inicial es circular. Por otro lado, cuando el primordio es prolato, se sigue manteniendo prolato, pero con una X/Y mayor. Del mismo modo que con el oblató, a medida que F/X_0 se va volviendo más pequeña la relación va aumentando hasta aproximarse a los casos donde el primordio inicialmente era circular.

Los resultados obtenidos de la forma final del ojo cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo pueden ser debidos a un proceso de difusión. Este proceso actuaría sobre las células cuando el primordio se está diferenciando. La difusión provocaría que los primordios tendieran a las formas ligeramente oblatas que se observan en los resultados. Cuando los primordios son elípticos si la velocidad con la que estos se diferencian es muy rápida (valores altos de F/X_0) las fuerzas de difusión no tienen tiempo para actuar. En consecuencia, el ojo es menos elíptico, pero sin alcanzar esa forma ligeramente oblató. Las fuerzas de difusión van teniendo más influencia a medida que el proceso de diferenciación tiene una mayor duración (véase F/X_0 más bajas). Cuando el proceso tiene una mayor duración, el primordio alcanza mayores tamaños y por tanto la velocidad de crecimiento

celular disminuye más. Las células entonces tienen más tiempo para reorganizarse y difundirse, dando la forma ligeramente oblata al primordio. La división celular parece favorecer la deformación del primordio ya que cuando la velocidad de crecimiento celular se mantiene constante el ojo final tiende a ser más oblato a medida que disminuye F/X_0 . A valores altos de F/X_0 no se produciría tal deformación por el corto tiempo en el que se diferencia el primordio.

Un fenómeno similar ha sido identificado en un trabajo de Acemel et al. [10], donde usan un ibM parecido al de este trabajo para analizar el crecimiento de colonias bacterianas. En este trabajo definieron un parámetro Γ que es la relación entre el tiempo de difusión de las células, t_{dif} , con respecto al tiempo de crecimiento celular, t_g ($\Gamma = t_{dif}/t_g$). El tiempo de difusión está relacionado con la facilidad de las células de difundirse en el medio. Este es más alto cuanto menor sea la tendencia de la bacteria de difundir. El tiempo de crecimiento celular es el tiempo que tarda la célula en dividirse y es inversamente proporcional a la velocidad de crecimiento celular. Los autores observaron que cuanto menor es Γ , es decir, cuanto mayor sea la influencia de la difusión sobre la división celular ya que tardan menos en difundirse, más circulares eran las colonias bacterianas. Por otro lado, cuanto mayor fuese Γ , más oblatas eran las colonias.

Lo expuesto en el artículo de Acemel et al. [10] puede llevarnos a pensar que altos valores de V_g , cuando el tiempo de diferenciación es lo suficientemente largo hacen que el órgano final tienda a ser más oblato. Esto podría provocar las diferencias que se dan entre las curvas cuando la velocidad de crecimiento celular es constante. La reducción de la velocidad de crecimiento celular conforme aumenta la biomasa provoca que la forma del primordio tienda a estabilizarse en una forma casi oblata.

Las diferencias que observamos de los casos donde la velocidad de crecimiento celular es constante con respecto a los que va disminuyendo puede ser debido a la forma que va tomando el primordio durante el proceso de diferenciación. Según la forma que va adquiriendo el ojo, el MF tarda más o menos en desplazarse de un polo al otro del primordio ocular. El modelo matemático no tiene en cuenta el cambio de forma del primordio durante el proceso de diferenciación. Cuando la velocidad de crecimiento celular es constante, el primordio se va deformando más cuanto más bajo sea F/X_0 . Por tanto, las curvas de biomasa y tiempo de diferenciación que se generan difieren más del modelo matemático. Por otro lado, cuando la velocidad de crecimiento celular va disminuyendo, el primordio tiende a estabilizarse en una forma aproximadamente circular a F/X_0 bajas. De esta manera, al tener una forma regular estable los resultados de biomasa y tiempo de diferenciación no varían mucho entre sí. A F/X_0 altas, tanto para un caso como el otro, el efecto de la deformación del primordio en las curvas de los resultados no es apreciable ya que el proceso de diferenciación no ha durado lo suficiente.

5. CONCLUSIÓN

El ibM usado en este artículo pretende simular el mecanismo de dilución del Upd que se da en el proceso de diferenciación en el ojo de *D. melanogaster*. Este mecanismo está basado en la reducción de la velocidad de crecimiento celular durante el proceso de diferenciación. Los resultados muestran que la dilución de la citoquina parece afectar al tiempo de diferenciación y biomasa del ojo de la mosca.

Además, el mecanismo favorece que el ojo final tienda a una forma circular ligeramente oblata a diferencia que los resultados del ibM del trabajo de F.J. Lobo-Cabrera et al. donde los primordios tienden a una forma de oblato. La razón detrás de esto parece ser debido a la reducción de la velocidad de crecimiento celular que favorece la dispersión de las células por el primordio. La forma circular ligeramente oblata favorece que la biomasa y el tiempo de diferenciación del ojo sigan el modelo matemático definido por F.J. Lobo-Cabrera et al. [3]. Lo mismo ocurre cuando la forma inicial del primordio no es circular, a diferencia de lo que ocurre en el trabajo del F.J. Lobo-Cabrera et al. [3]. La causa puede ser debida a que cuando la velocidad de crecimiento va disminuyendo, la forma del primordio se estabiliza en una forma cuando los tiempos de diferenciación son muy largos. En cambio, cuando la velocidad de crecimiento es constante, cuando los tiempos de diferenciación son muy largos, el primordio va deformándose. Sin embargo, parte de las diferencias que se dan con respecto al modelo matemático cuando la forma inicial del primordio es elipsoide parecen estar causadas por una distribución asimétrica de fuerzas como se explica en el artículo de F.J. Lobo-Cabrera et al. [3].

El mecanismo de la dilución de la Upd le es útil a *D. melanogaster* por distintas razones. Por un lado, el mecanismo favorece que se siga un modelo que permite al mismo tiempo una consistencia en los parámetros del ojo para una misma especie y una cierta flexibilidad para la variación morfológica del órgano durante el proceso evolutivo. Por otro lado, el mecanismo facilita la diferenciación del ojo. Esto es debido a que, al disminuir la velocidad de crecimiento celular, el MF no requiere avanzar a velocidades tan altas. De hecho, recientemente en un artículo de Vollmer et al. [11], propusieron este mecanismo como de finalización del proceso de diferenciación.

En definitiva, el ibM presente en este trabajo es una potencial herramienta para el análisis e identificación de mecanismos de control de procesos de diferenciación de ojos compuestos. Análisis cuantitativos más profundos de este modelo junto a la comparación de estos con datos experimentales puede aportarnos más información acerca del control y desarrollo del proceso de diferenciación del ojo de *D. melanogaster*. Esta información puede llegar a ser muy relevante pues puede ser extrapolable a otros procesos de diferenciación celular similares.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a Alejandro Cuetos Menéndez por la tutorización de este trabajo y por su apoyo para escribir este artículo y a la revista por su interés en él.

6. REFERENCIAS

- [1] J. Vollmer, F. Casares, and D. Iber, "Growth and size control during development," *Open Biol.*, vol. 7, no. 11, 2017.
- [2] A. Silvia and M. E. Luis, "Imaginal Discs," *Curr. Biol.*, vol. 20, no. 10, pp. 489–492, 2009.
- [3] F. J. Lobo-Cabrera, T. Navarro, A. Iannini, F. Casares, and A. Cuetos, "Quantitative Relationships Between Growth, Differentiation, and Shape That Control *Drosophila* Eye Development and Its Variation," *Front. Cell Dev. Biol.*, vol. 9, no. July, pp. 1–13, 2021.
- [4] J. Curtiss and M. Mlodzik, "Morphogenetic furrow initiation and progression during eye development in *Drosophila*: The roles of decapentaplegic, hedgehog and eyes absent," *Development*, vol. 127, no. 6, pp. 1325–1336, 2000.

- [5] J. Vollmer, P. Fried, M. Sánchez-Aragón, C. S. Lopes, F. Casares, and D. Iber, "A quantitative analysis of growth control in the *Drosophila* eye disc," *Development*, vol. 143, no. 9, pp. 1482–1490, 2016.
- [6] M. Ginovart, M. Blanco, X. Portell, and P. Ferrer-Closas, "Individual-based modeling: An attractive methodology to study bio systems," *Ensen. las Ciencias*, vol. 30, no. 2, pp. 93–108, 2012.
- [7] S. Turner, J. A. Sherratt, K. J. Painter, and N. J. Savill, "From a discrete to a continuous model of biological cell movement," *Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys.*, vol. 69, no. 2 1, pp. 1–10, 2004.
- [8] A. Cuetos and B. Martínez-Haya, "Liquid crystal phase diagram of soft repulsive rods and its mapping on the hard repulsive reference fluid," *Mol. Phys.*, vol. 113, no. 9–10, pp. 1137–1144, 2015.
- [9] H. Lowen, "Brownian Dynamics of Hard Spherocylinders," *Phys. Rev. E*, vol. 50, no. 2, pp. 1232–1242, 1994.
- [10] R. D. Acemel, F. Govantes, and A. Cuetos, "Computer simulation study of early bacterial biofilm development," *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–9, 2018.
- [11] J. Vollmer *et al.*, "Growth control in the *Drosophila* eye disc by the cytokine unpaired," *Dev.*, vol. 144, no. 5, pp. 837–843, 2017.



Iván Gutiérrez Bombín tiene un grado en Biotecnología por la Universidad de Extremadura en 2019 y un máster en Biotecnología Industrial Ambiental y Alimentaria por la Universidad Pablo de Olavide en 2022.

Nanopartículas metálicas como agentes microbicidas

Antonio Moreno-Rodríguez

Resumen—Las Nanopartículas metálicas suponen una gran alternativa al uso generalizado y excesivo de antibióticos para el tratamiento de los diferentes tipos de infecciones, que actualmente presentan una gran resistencia a la mayoría de estos fármacos. Estas nanopartículas metálicas ejercen su acción antibacteriana por diferentes mecanismos, entre los que destacan la generación de estrés oxidativo o la liberación de iones metálicos. Estos nanoagentes químicos pueden estar en su forma libre o funcionalizados con antibióticos para aumentar su efecto antibacteriano. En esta revisión, nos centraremos en cada uno de los tipos de nanopartículas metálicas mayormente estudiadas y los diversos mecanismos de acción por los que generan toxicidad bacteriana.

Palabras Claves— Nanopartículas metálicas, nanopartículas de plata, resistencia a antibióticos, antibióticos, bacterias resistentes, antibacteriano, microbicida, multiresistencia.

1. INTRODUCCIÓN

El abuso de antibióticos en los últimos años ha supuesto un cambio en el paradigma de las infecciones bacterianas. Este exceso ha resultado como consecuencia de que son muy baratos producirlos y se utilizan frecuentemente para prevenir infecciones bacterianas y no sólo para su tratamiento.

La eficacia de los antibióticos se basa en su gran variedad de procesos dianas en la biología bacteriana, entre los que destacan la síntesis de pared celular, la maquinaria traduccional y la de replicación de ADN.

Sin embargo, las bacterias también han desarrollado sus defensas contra estas herramientas microbicidas que han desarrollado los humanos. La resistencia bacteriana a antibióticos se basa en diferentes mecanismos, tales como la expresión de enzimas capaces de degradar los agentes biocidas, la alteración de componentes bacterianos con el objetivo de no poder ser reconocidos ante esos fármacos o la inducción de bombas de flujo que permiten expulsar estos compuestos [1].

Este hecho presenta un problema real, ya que cada año mueren unas 3000 personas sólo en España (según el Registro del Conjunto Mínimo Básico de Datos). Además, la OMS asegura que, si no se toman medidas, se llegará a una era post-antibióticos en la que cualquier mínima infección podría ocasionar graves problemas [2].

Por ello, la Nanotecnología y el uso de nanopartículas (NPs), en particular las NPs metálicas, representa una nueva herramienta científico-tecnológica que puede ayudar a solucionar el problema de la resistencia a antibióticos, ya que poseen propiedades antimicrobianas. Además, estas NPs pueden conjugarse con agentes antibióticos para conseguir una mayor capacidad de eliminar bacterias, ya sean resistentes a los antibióticos utilizados o no [3].

2. MECANISMOS MICROBICIDAS DE LAS NANOPARTÍCULAS

Las NPs, al tratarse de elementos a escala nanométrica,

tienen la capacidad de interactuar con las paredes bacterianas y atravesarlas. Las NPs metálicas presentan capacidades antimicrobianas debido a los siguientes mecanismos de acción: supresión de la síntesis de pared celular, inhibición del proceso de la traducción, producción de especies reactivas de oxígeno (o ROS), fotocatalisis, inhibición enzimática y el bloqueo de la formación de biofilm [4]. A continuación, se desarrollarán varios de los mecanismos antibacterianos de las nanopartículas.

2.1. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un mecanismo clave y principal en la acción antimicrobiana de las NPs metálicas.

Los mecanismos por los que se produce el daño oxidativo son varios, dando lugar a la producción de múltiples agentes oxidantes, como pueden ser el H_2O_2 , el O^- o el oxígeno singlete. Por otro lado, los organismos presentan varios niveles de defensa ante el daño oxidativo, tales como las enzimas antioxidantes.

De forma general, se mantiene un equilibrio entre la generación de especies reactivas de oxígeno y su eliminación a través de los mecanismos antioxidantes. Sin embargo, cuando hay un exceso de ROS, el estrés oxidativo generado puede afectar a la permeabilidad de las membranas bacterianas y dañarlas.

La mayoría de las NPs metálicas generan ROS como mecanismo principal para impedir la proliferación bacteriana [5][6].

2.2. Disolución de iones metálicos

Los iones metálicos liberados a partir de óxidos de metales en diferentes tipos de medios, como el medio acuoso, pueden introducirse dentro de los sistemas bacterianos y alterar la fisiología de estos. Esto es posible porque los iones interactúan con grupos funcionales de proteínas o ácidos nucleicos y dar lugar a alteraciones enzimáticas o aberraciones genéticas, incluso a filtrado de múltiples componentes celulares [7].

Ejemplo de este mecanismo bactericida son las nanopartículas de paladio y nanocables de plata preparadas en naftalato de polietileno. El efecto antimicrobiano se asoció a la liberación de iones metálicos a la disolución [8].

2.3. Mecanismos no oxidativos

Las NPs de MgO han presentado actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, por ejemplo, aunque este hecho no está relacionado con los mecanismos oxidativos.

Por ello, las NPs de MgO no provocan peroxidación lipídica en la membrana ni estrés oxidativo intracelular, pero se ha comprobado que dañan a la membrana celular a través de la combinación de NPs unidas a la membrana, alteraciones de pH, liberación de iones de Magnesio y aplicación de radiación UV [9].

3. TIPOS DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS CON EFECTO ANTIMICROBIANO

Algunos de los tipos de NPs metálicas que presentan propiedades antimicrobianas han sido representados en la Figura 1 y se encuentran recogidos en la Tabla 1.

3.1. Nanopartículas de Oro

Las NPs de oro (AuNPs) se suelen usar como compuestos para la entrega de fármacos a la zona donde se encuentra la diana de un fármaco determinado. Sin embargo, se ha comenzado a cuantificar su efecto antimicrobiano en combinación a antibióticos del grupo de las cefalosporinas ya utilizados. El efecto se ha demostrado con AuNPs conjugadas con cefaclor. La acción conjunta de ambos compuestos aumentaba la porosidad de la pared bacteriana, permitiendo a las NPs conjugadas entrar dentro del microorganismo y provocar daños en el ADN, lo que dificultaba su transcripción y, por lo tanto, la codificación de proteínas [10].

La conjugación con cefotaxima también da lugar a actividad microbicida. Se ha descrito que las AuNPs depositan altas concentraciones de esta cefalosporina y consiguen suprimir la pared bacteriana antes de que el antibiótico sea degradado por las beta-lactamasas. En este caso, las AuNPs también provocan daño en el ADN [11].

Tipos NPs	Mecanismos antimicrobianos
Oro	Atracción electrostática, acumulación en superficies celulares e interacción con la membrana celular
Plata	Interfiere con la membrana celular, daña al ADN y al transporte electrónico
Óxido de Zinc	Rompe la membrana celular, se acumula dentro de la célula y produce H ₂ O ₂
Dióxido de Titanio NPs liberadora de óxido de nítrico	Daña membranas celulares y libera especies reactivas de oxígeno Libera óxido nítrico y produce especies reactivas de oxígeno

Tabla 1.- Tipos de NPs metálicas con propiedades antibacterianas. Tabla adaptada de: <https://doi.org/10.3390/IJMS20102468>

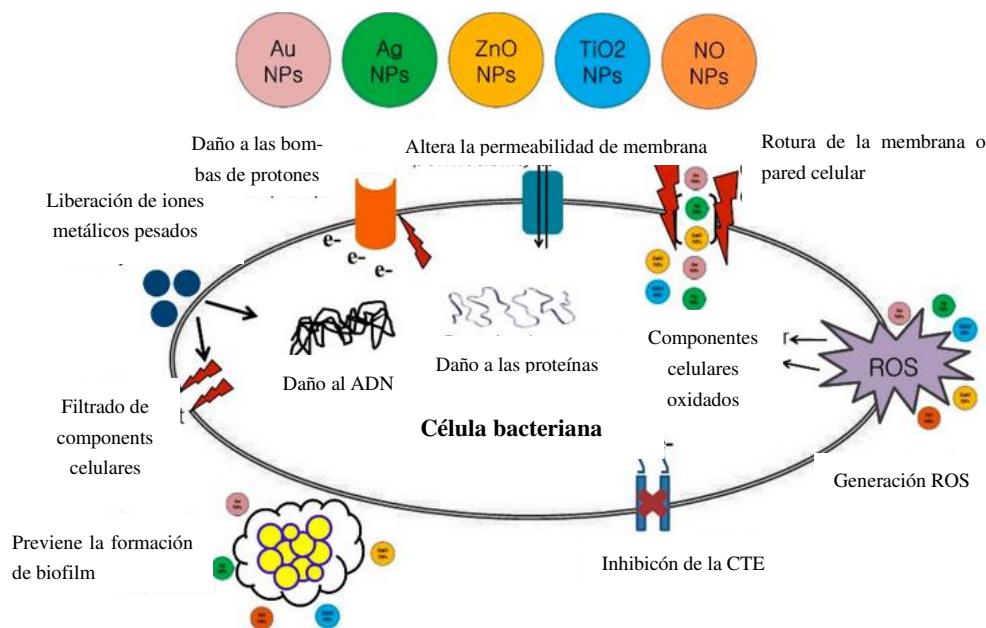


Figura 1.- Esquema de los mecanismos antimicrobianos de varias NPs metálicas. Figura adaptada de: <https://doi.org/10.3390/IJMS20102468>

3.2. Nanopartículas de Plata

Las NPs de plata (AgNPs) son NPs que presentan diversos efectos en función de su tamaño, su forma, su concentración y su estado coloidal.

El efecto antimicrobiano de las AgNPs depende directamente de su tamaño, ya que se ha observado en diversos estudios que las dimensiones adecuadas para la rotura de la pared bacteriana son de unos 5-20 nm [12].

La capacidad microbicida también depende directamente del estado coloidal de las AgNPs, ya que es en su forma coloidal cuando presentan una mayor actividad contra bacterias con multirresistencia a antibióticos. Esta actividad la realiza actuando como un agente catalítico que inhibe las enzimas específicas necesarias para el consumo de oxígeno bacteriano [13].

La conjugación de AgNPs y amoxicilina presenta un efecto sinérgico o aditivo, al igual que pasaba con las AuNPs. El efecto es positivo frente a bacterias resistentes o no resistentes a antibióticos. La sinergia se basa en el aumento de la permeabilidad de la membrana por agentes antibióticos y la posterior entrada de las AgNPs que ocasionan el daño en el ADN que provoca la muerte bacteriana. Según Li et al., la sinergia también se puede deber al aumento de la interacción de AgNPs con la membrana, por lo que facilitan el transporte de antibióticos, actuando como un sistema de entrega de fármacos, de tal forma que se aumenta la concentración de fármacos que actúa contra la infección bacteriana [14].

3.3. Nanopartículas de óxido de Zinc

Los mecanismos por los cuáles se da la actividad antimicrobiana de las NPs de óxido de Zinc (ZnO-NPs) no están del todo definidos. El mecanismo de toxicidad depende directamente de las propiedades del medio en el que el Zinc esté disuelto [15].

Al ser expuestas a luz UV en medio acuoso, las ZnO-NPs generan diferentes tipos de ROS, como H_2O_2 y O_2^- . Raghupathi et al. confirman que la generación de ROS en presencia de radiación UV es el principal efecto de la nanotoxicidad bacteriana de las ZnO-NPs, aunque aún queda por demostrar la relevancia de este mecanismo en ausencia de luz [16].

Al igual que el resto de NPs metálicas, las ZnO-NPs también pueden usarse en combinación con un agente antibiótico. El efecto microbicida sinérgico se observó al conjugarse con la Ciprofloxacina, un antibiótico del grupo de las fluoroquinolonas. Esto parece deberse a que las NPs interfieren con la acción de las proteínas NorA de la membrana bacteriana, cuya función es la de expulsar los antibióticos al medio extracelular. Otra posibilidad es que las ZnO-NPs aumenten la permeabilidad de las fluoroquinolonas y faciliten su entrada al interior de la bacteria [17].

3.4. Nanopartículas de Dióxido de Titanio

El efecto antibacteriano de las NPs de dióxido de Titanio (TiO_2 NPs) se debe principalmente a la producción de ROS de forma fotodependiente.

La generación de estos radicales libres desencadena la peroxidación de los lipopolisacáridos, peptidoglicanos y la bicapa lipídica de la membrana externa, provocando

una serie de daños oxidativos. Sin embargo, las células sobreviven y no presentan señales de lisis, ya que no se afecta la membrana interna [18].

Respecto a su uso combinado con otros antibióticos, la actividad antimicrobiana de las TiO_2 NPs también se ha visto aumentada [19].

3.5. Nanopartículas liberadoras de Óxido Nítrico

El Óxido Nítrico (NO), a pesar de su corta vida media, presenta una gran reactividad. El efecto del NO dependerá de la capacidad de las NPs de generarlo en concentraciones adecuadas para producir gradientes de concentraciones y que puedan difundir hasta la población bacteriana.

Para sintetizar las NPs liberadoras de NO, se forma un hidrogel compuesto de tetrametilortosilicato, polietilenglicol y quitosano. En dicho gel se va a generar el NO, a partir de la reducción del nitrato usando la glucosa y altas temperaturas. El compuesto resultante es molido y secado para formar estas NPs liberadoras de NO al exponerse a un medio acuoso [20].

Las capacidades inmunomoduladoras y antibióticas del NO permiten la eliminación de infecciones sin la posibilidad de que desarrollen resistencia a antibióticos, al actuar a través de diversas vías, dando lugar a la disminución de la carga patógena del individuo infectado. Sin embargo, un problema principal de este tratamiento es la ausencia de una vía efectiva de entrega de NO [21].

4. CONCLUSIONES

La multirresistencia a los diversos antibióticos utilizados de las cepas bacterianas actuales ya supone un gran problema en el presente y, si no se halla una solución, será la principal causa de muerte en nuestra sociedad en los próximos años, superando a las muertes causadas por cáncer.

Es por ello por lo que el uso de ciertas alternativas a los antibióticos puede ser una posible aproximación para tratar y eliminar a estas bacterias multi-resistentes. Las NPs metálicas, sea en su forma libre o conjugada con un antibiótico, supone una gran alternativa para vencer a la resistencia bacteriana, ya que tienen una alta capacidad microbicida y antibacteriano, mientras que las bacterias aún no presentan mecanismos para eliminarlas o evitarlas, como hacen con los antibióticos.

Sin embargo, algunas NPs metálicas utilizadas para el tratamiento de estas bacterias presentan efectos tóxicos al ser administradas al organismo, por lo que es necesario continuar realizando ensayos de toxicidad con estas NPs e intentar solventar estos efectos dañinos en el organismo.

Aún con ello, el uso de NPs metálicas es una posible aproximación muy potente para el tratamiento y la eliminación de las superbacterias con multi-resistencia a antibióticos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a la profesora titular de la asignatura de Nanotecnología, Ana Paula Zaderenko, por la inspiración y aceptación para realizar este trabajo.

REFERENCIAS

- [1] Poole, K. Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. *J. Appl. Microbiol.* 2002, 92, 555–645.
- [2] World Health Organization. Antibiotic resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
- [3] Allahverdiyev, A.M.; Kon, K.V.; Abamor, E.S.; Bagirova, M.; Rafailovich, M. Coping with antibiotic resistance: Combining nanoparticles with antibiotics and other antimicrobial agents. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 2011, 9, 1035–1052.
- [4] Weir, E.; Lawlor, A.; Whelan, A.; Regan, F. The use of nanoparticles in anti-microbial materials and their characterization. *Analyst* 2008, 133, 835–845.
- [5] Yang, W.; Shen, C.; Ji, Q.; An, H.; Wang, J.; Liu, Q.; Zhang, Z. Food storage material silver nanoparticles interfere with DNA replication fidelity and bind with DNA. *Nanotechnology* 2009, 20, 085102.
- [6] Ansari, M.A.; Khan, H.M.; Alzohairy, M.A.; Jalal, M.; Ali, S.G.; Pal, R.; Musarrat, J. Green synthesis of Al₂O₃ nanoparticles and their bactericidal potential against clinical isolates of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2015, 31, 153–164.
- [7] Castellano, J.J.; Shafii, S.M.; Ko, F.; Donate, G.; Wright, T.E.; Mannari, R.J.; Payne, W.G.; Smith, D.J.; Robson, M.C. Comparative evaluation of silver-containing antimicrobial dressings and drugs. *Int. Wound J.* 2007, 4, 114–122.
- [8] Polivkova, M.; Valova, M.; Siegel, J.; Rimpelova, S.; Hubáček, T.; Lyutakov, O.; Švorčík, V. Antibacterial properties of palladium nanostructures sputtered on polyethylene naphthalate. *RSC Adv.* 2015, 5, 73767–73774.
- [9] Leung, Y.H.; Ng, A.M.; Xu, X.; Shen, Z.; Gethings, L.A.; Wong, M.T.; Chan, C.M.; Guo, M.Y.; Ng, Y.H.; Djuricic, A.B.; et al. Mechanisms of antibacterial activity of MgO: Non-ROS mediated toxicity of MgO nanoparticles towards *Escherichia coli*. *Small* 2014, 10, 1171–1183.
- [10] Rai, A.; Prabhune, A.; Perry, C.C. Antibiotic mediated synthesis of gold nanoparticles with potent antimicrobial activity and their application in antimicrobial coatings. *J. Mater. Chem.* 2010, 20, 6789–6798.
- [11] Shaikh, S.; Rizvi, S.M.D.; Shakil, S.; Hussain, T.; Alshammari, T.M.; Ahmad, W.; Tabrez, S.; Al-Qahtani, M.H.; Abuzenadah, A.M. Synthesis and characterization of cefotaxime conjugated gold nanoparticles and their use to target drug-resistant CTX-M-producing bacterial pathogens. *J. Cell. Biochem.* 2017, 118, 2802–2808.
- [12] Ansari, M.A.; Khan, H.M.; Khan, A. Evaluation of antibacterial activity of silver nanoparticles against MSSA and MRSA on isolates from skin infections. *Biol. Med.* 2011, 3, 141–146.
- [13] Lkhagvajav, N.; Yasa, I.; Celik, E.; Koizhaiganova, M.; Sari, O. Antimicrobial activity of colloidal silver nanoparticles prepared by sol-gel method. *Dig. J. Nanomater. Biostruct.* 2011, 6, 149–154.
- [14] Li, P.; Li, J.; Wu, C.; Wu, Q.; Li, J. Synergistic antibacterial effects of β -lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. *Nanotechnology* 2005, 16, 1912.
- [15] Li, M.; Zhu, L.; Lin, D. Toxicity of ZnO nanoparticles to *Escherichia coli*: Mechanism and the influence of medium components. *Environ. Sci. Technol.* 2011, 45, 1977–1983.
- [16] Raghupathi, K.R.; Koodali, R.T.; Manna, A.C. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir* 2011, 27, 4020–4028.
- [17] Banoee, M.; Seif, S.; Nazari, Z.E.; Jafari-Fesharaki, P.; Shahverdi, H.R.; Moballegh, A.; Moghaddam, K.M.; Shahverdi, A.R. ZnO nanoparticles enhanced antibacterial activity of ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2010, 93, 557–561.
- [18] Liu, P.; Duan, W.; Wang, Q.; Li, X. The damage of outer membrane of *Escherichia coli* in the presence of TiO₂ combined with UV light. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2010, 78, 171–176.
- [19] Roy, A.S.; Parveen, A.; Koppalkar, A.R.; Prasad, M.A. Effect of nano-titanium dioxide with different antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Biomater. Nanobiotechnol.* 2010, 1, 37.
- [20] Weller, R.B. Nitric oxide-containing nanoparticles as an antimicrobial agent and enhancer of wound healing. *J. Investig. Dermatol.* 2009, 129, 2335–2337.
- [21] Schairer, D.; Martinez, L.R.; Blecher, K.; Chouake, J.; Nacharaju, P.; Gialanella, P.; Friedman, J.M.; Nosanchuk, J.D.; Friedman, A. Nitric oxide nanoparticles: Pre-clinical utility as a therapeutic for intramuscular abscesses. *Virulence* 2012, 3, 62–67.



Antonio Moreno-Rodríguez recibió el título del Grado de Bioquímica por la Universidad de Córdoba en el año 2020, y actualmente está cursando el Máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide.

¿Qué está pasando en el Mar Menor?

Jose Antonio Berlanga Torres

Resumen— En las últimas décadas, el mar menor está sufriendo un proceso de eutrofización que afecta directamente a su biodiversidad, tanto es así que en el pasado octubre de 2019 y el verano de 2021 ocurrieron muertes masivas de organismos marinos como consecuencia directa de este proceso. Esta eutrofización comenzó a ser preocupante en 2016, cuando el Bloom fitoplasmático conocido popularmente como sopa verde empezó a hacerse visible y a tornar el agua de un tono verdoso. Desde entonces la laguna ha experimentado extremos de naturaleza similar al del verano de 2021 que muestran que el ecosistema ha perdido su capacidad de autorregulación.

Palabras Claves— Eutrofización, Mar Menor, hipoxia, anoxia.



1. INTRODUCCIÓN

Han pasado 3 años desde que la mortalidad masiva de organismos marinos del mar menor saltaba a todos los titulares de la prensa española. Fue entonces cuando numerosos estudios decidieron encontrar las causas exactas de este desastre con intención de posibilitar medios de prevención y evitar que esta catástrofe volviera a ocurrir. En este contexto, se determinaba que la causa principal de dicho desastre provenía de la eutrofización del agua, culpando de este desastre directamente a la enorme actividad industrial existente en el perímetro de dicho ecosistema.

La laguna costera venia experimentando a lo largo de las décadas, un aumento de nutrientes (Nitrógeno y Fósforo) como consecuencia de los aportes masivos y casi continuo procedentes de la actividad humana, pero no fue hasta octubre de 2019, [1] cuando el aumento de las lluvias torrenciales en la zona de la laguna produjo un aumento masivo de dichos nutrientes en un breve periodo de tiempo, disparando con ello la proliferación de algas oportunistas de crecimiento rápido que fomentaron condiciones de hipoxia en determinadas zonas de la laguna, causando con ello la muerte masiva de numerosos organismos marinos.[2] Tras este suceso, vino el de verano de 2021, cuando el aumento de temperatura fue el factor determinante que disparó el crecimiento de algas en la laguna, repitiendo de nuevo la catástrofe. [3]

Como consecuencia de estos eventos, varios estudios referentes a los parámetros de la albufera salieron a la luz, cuantificando por primera vez el nivel de eutrofización del agua y desvelando que el Mar Menor se encuentra en una etapa muy avanzada y extrema del proceso de eutrofización.

2. COMPRENDIENDO EL PROBLEMA

Uno de los principales problemas que se observó a simple vista fue el aumento de algas, tanto unicelulares como pluricelulares, que surgió en el agua de la laguna tornando a esta de un color verdoso, de ahí que los habitantes de la zona dieran el nombre popular de 'sopa verde'.

Tras la cuantificación de dichos organismos, se observó que la concentración se había casi duplicado después de los episodios de lluvias torrenciales y olas de calor, y es entonces cuando surge el verdadero problema, ya que el crecimiento desmesurado de vida microscópica provoca ambientes hipóxicos en zonas concretas de la laguna, sobre todo por la noche, pues es cuando la fotosíntesis de dichos organismos deja de ser predominante pasando a ser la respiración aerobia.

Seguido de la cuantificación de organismos, se estudia el oxígeno disuelto en agua en la zona norte, centro y sur de la laguna, y se concluye que en las zonas sur de la laguna, donde el vertido de nutrientes es directo, la concentración de microorganismo es mayor y por lo tanto el oxígeno disuelto es menor, llegando a ser prácticamente 0mg/L en altas horas de la madrugada. Este efecto no se registra en la zona norte de la laguna, donde los valores ronda de media 6 mg/L. (Figura 1) [2]

El ambiente anóxico es el que provocan los desastres de muertes masivas, pero además de ello, el aumento de microorganismos provoca un efecto de turbidez en el agua, lo que agrava la situación impidiendo que la vegetación del fondo del mar reciba la luz necesaria para su proliferación. El efecto cadena de este crecimiento sigue detrás de la muerte de la vegetación bentónica del fondo marino, pues al morir esta, sus restos se acumulan fomentando con ello que las poblaciones bacterianas degraden dicha materia orgánica mediante respiración anaerobia, produciendo con ello un ambiente reductor en el agua. (Figura 2) [2]

Por si fuera poco, este ambiente reductor también contribuye a la mortalidad de las especies, ya que por culpa de ello, los compuestos carbonados, nitrogenados y sulfúricos se reducen formando nuevos compuestos tóxicos que son letales para la vida.

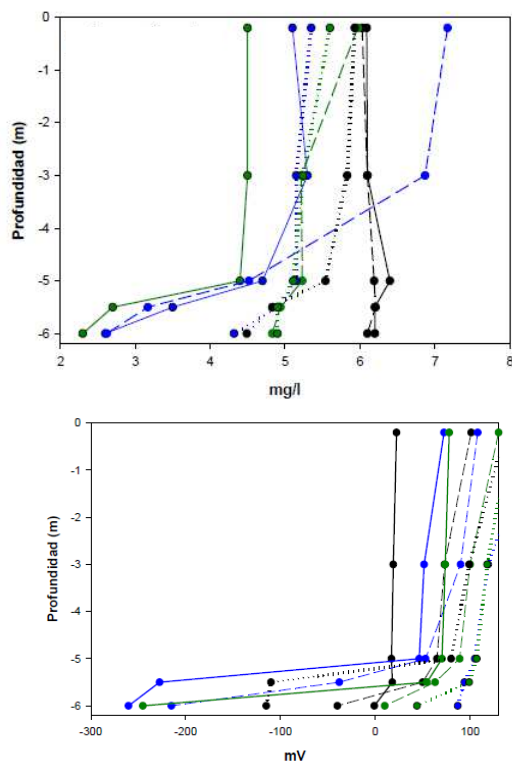


Figura 1. Variación del oxígeno disuelto (gráfico superior) y del potencial redox (gráfico inferior) en la columna de agua en las zonas norte (línea color negro), centro (línea color azul) y sur (línea color verde) del Mar Menor.

En línea continua se marcan las mediciones realizadas el 19 de agosto de 2021, en discontinua las realizadas el 26 de agosto de 2021 y en línea de puntos las realizadas el 3 de septiembre de 2021
Adaptada de la ref. [2]



Figura 2: Comparativa de la situación en la estación A (norte): pradera de *Caulerpa prolifera* viva en aparente buen estado el 3/09/2021. Visibilidad muy reducida. Y estación B (centro): pradera de *Caulerpa prolifera* muy deteriorada observada el 3/09/2021. Visibilidad muy reducida y capa de materia orgánica particulada en el fondo.[2]

Al final de la estación estival, la zona geográfica donde se encuentra el Mar Menor experimenta grandes rachas de viento, moviendo la masa de agua de sur a norte. Este cambio de corrientes hace que el ambiente anóxico del sur se equilibre con el norte dejando la laguna en una media de 4mg/L y reduciendo así el problema. No obstante, las elevadas concentraciones de materia orgánica y la elevada turbidez persisten ya no solo en la zona centro-sur de la laguna, sino también en la zona norte, y en consecuencia la probabilidad de nuevos eventos de déficit de oxígeno en algún grado (hipoxia, anoxia) también persiste.[2]

Como consecuencia de ello si la situación persiste por más tiempo, la vegetación bentónica que actualmente coloniza los fondos podría morir y agravar el estado de la columna de agua y el ecosistema lagunar. Este hecho ha sido ya confirmado en la zona sur, donde la pradera de macroalgas que anteriormente existía ha desaparecido casi por completo. (Figura 2)

3. Conclusiones.

Las observaciones realizadas sugieren que el problema de mortalidad masiva está estrechamente relacionado con la eutrofización del agua causada por un Bloom fitoplanctónico, que tiene como consecuencia una reducción del oxígeno disponible hasta llegar a niveles de anoxia, además de la reducción de los potenciales redox que produce una acumulación de compuestos reducidos del carbono, el nitrógeno y el azufre, potencialmente tóxicos para la vida marina. [5]

Sabemos que si situación persiste, la mejora del nivel de oxigenación de la laguna relacionada con el cambio en el régimen local de vientos no es suficiente para paliar el efecto de eutrofización y ello nos indica que si la situación persiste por más tiempo la vegetación bentónica que actualmente coloniza los fondos podría morir y agravar el estado de la columna de agua y el ecosistema lagunar.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Bagariano TU. 1993. Sulfide as a toxicant in aquatic habitats. SEAFDEC Asian Aquacultura, 15(3), 2-4.
- [2] Ruiz, J.M.; Clemente-Navarro, P.; Mercado, J.M; Fraile-Nuez, E.; Albentosa, M.; Marín-Guirao, L.; Santos, J. (2021). Nuevo evento de mortalidad masiva de organismos marinos en el Mar Menor: contexto y factores. Informe de asesoramiento técnico del Instituto Español de Oceanografía (IEO). 24pp.
- [3] Hobday, A. J. et al. (2016), A hierarchical approach to defining marine heatwaves, Prog. Ocean., 141, pp. 227-238, 10.1016/j.pocean.2015.12.014
- [4] Fraile-Nuez, E., Machín, F., Santana-Casiano, J. M., González-Dávila, M., Domínguez-Yanes, J. F., Mercado, J., Cortes, M.D., Gómez-Ballesteros, M., Santos-Echeandía, J., García-Muñoz, R., Ramos-Segura, A., Bernardeau-Esteller, J., Belando-Torrentes, M.D., Garrido-Faustino, S., Conde-Caño, R.M., Ruiz-Fernández, J. M., 2018. Estudio Oceanográfico Integral de Alta Resolución de la Laguna Costera de El Mar Menor, Murcia Informe Final (noviembre 2016 - septiembre 2017).
- [5] Mercado, J.M., Cortés, D., Gómez-Jakobsen, F., García-Gómez, C., Ouissa, S., Yebra, L., Ferrera, I., Valcárcel-Pérez, N., López, M., García-Muñoz, R., Ramos, A., Bernardeau, J, Belando, M.D., Fraile, E., Ruíz, J.M. 2021. Role of small-sized phytoplankton in triggering an ecosystem disruptive algal bloom in a Mediterranean hypersaline coastal lagoon. Pollution Bulletin 164, 111989.
- [6] Ruiz JM, Albentosa M y 20 autores más. 2020. Informe de evolución y estado actual del Mar Menor en relación con el proceso de eutrofización y sus causas. Informe de asesoramiento científico-técnico del Instituto Español de Oceanografía IEO, 165 pp.



Jose Antonio Berlanga Torres. Natural de Córdoba. Biotecnólogo estudiante de Máster en biotecnología Industrial, Ambiental y Alimentaria.

Descontaminación de aguas residuales mediante fotocatalisis

Sonia Arrojo Viejo

Resumen— Los impactos causados en los recursos hídricos están avanzando progresivamente. Es por ello que es necesario minimizar estos impactos implementando tecnologías viables y novedosas como los llamados Procesos de Oxidación Avanzada (POA). Estas técnicas sirven para el tratamiento de los efluentes contaminantes de diversas empresas, consisten en la formación de radicales hidróxilo altamente oxidantes, los cuales contribuyen a la mineralización total de los compuestos contaminantes. Entre los procesos más utilizados se encuentra la fotocatalisis, la cual se basa en la aceleración de una fotoreacción a través de un catalizador, tal como el dióxido de titanio. En el presente artículo se realiza una revisión de los POA, concentrándose en los procesos de fotooxidación.

Palabras Claves— Agua, Contaminante, Procesos de Oxidación Avanzada, Fotocatalisis.

1. INTRODUCCIÓN

El agua es el compuesto más común en el planeta y es útil para todos los sectores industriales y necesaria para el desarrollo de actividades agrícolas. Todos los beneficios que presenta en las actividades antropogénicas como en el sostenimiento del planeta se deben a sus propiedades químicas y físicas [1].

Desde hace varios años, el desarrollo en estos sectores ha incrementado la descarga de sustancias que contaminan el medio ambiente. Se conocen más de 150 diferentes tipos de tratamientos para agua dulce y salada, el objetivo de realizar un tratamiento es remover del agua impurezas o sustancias no deseables [1,2].

Los tratamientos de agua pueden dividirse en cuatro niveles: preliminar, primario, secundario y terciario. Estos se diferencian por el parámetro de calidad que remueven o tratan. En la tabla se definen los niveles de tratamiento y el tipo de remoción que realizan:

TABLA 1

CLASIFICACIÓN DE LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS DE AGUAS

Nivel de tratamiento	ÍTEM		
	Mecanismos predominantes	Contaminantes removidos	Eficiencias de reducción
Preliminar	Físico	Sólidos gruesos (basuras, arenas) Grasas Acondicionamiento químico (pH)	SS: <10 % DBO: <10 % Coliformes: = 0 % Nutrientes: = 0 %
Primario	Físico	Sólidos suspendidos sedimentables Materia orgánica suspendida (parcialmente)	SS: 40-50 % DBO: 25-35 % Coliformes: 30-40 % Nutrientes: < 20 %
Primario avanzado	Físico y químico	Sólidos suspendidos sedimentables y no sedimentables Materia orgánica suspendida (parcialmente) Fósforo	SS: 70-85 % DBO: 45-55 % Coliformes: 60-90 % Nutrientes: 20 %N; 50-95 % P
Secundario	Biológico o químico	Sólidos no sedimentables Materia orgánica suspendida fina/soluble (parcialmente) Nutrientes (parcialmente) Patógenos (parcialmente)	SS: 60-99 % DBO: 60-99 % Coliformes: 60-99 % Nutrientes: 10-50 %
Terciario	Biológico o químico	Contaminantes específicos Materia orgánica fina y soluble (pulimento) Nutrientes Patógenos (principalmente)	SS: > 99 % DBO: > 99 % Coliformes: > 99,9 % Nutrientes: > 90 %

Adaptado de Torres, P. (2012) Perspectivas del tratamiento anaerobio de aguas residuales domésticas en países en desarrollo. *Revista EIA*. [12]

Por todo esto es necesario aportar soluciones que generen en el medio la menor repercusión posible, apareciendo lo que comúnmente se conoce como el desarrollo de la química verde. Lo que persigue la química verde es desarrollar una química lo más benigna posible [3].

2. ASPECTOS BÁSICOS DEL AGUA

2.1. Reacciones de oxidación-reducción:

Las actividades biológicas y muchos de los problemas de contaminación acuática son consecuencia de procesos de oxidación-reducción. Un proceso redox consiste en una reacción química entre especies que actúan como oxidantes y reductores. La mayoría de los procesos redox de los sistemas acuáticos son lentos y están catalizados por microorganismos [2]. Para describir la actividad relativa de los electrones, es decir, su tendencia a oxidante o reductor, se suele utilizar la magnitud pE, la cual es análoga al pH, utilizada para describir la actividad del protón. [2].

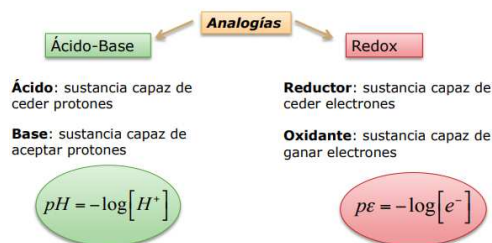


Figura 1. Analogía de las reacciones ácido-base y las reacciones redox.

3. PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA (POA)

Los sistemas convencionales de agua y plantas de tratamiento de aguas residuales no se encuentran diseñados para una adecuada remoción de los contaminantes emergentes. Por tanto, estos contaminantes deben ser regula-

dos y estudiados a fondo, ya que su presencia en el ambiente se encuentra en un proceso de aumento continuo. El efecto de los CE en el medio ambiente dependerá de su concentración, persistencia, bioacumulación, tiempo de exposición y/o mecanismos de biotransformación o eliminación [3]. Actualmente, entre las alternativas de tratamientos de efluentes contaminados con CE, destacan los Procesos Oxidativos Avanzados (POA). Cuentan con un elevado potencial para destruir la mayoría de los CE basándose en la generación de radicales hidroxilos [4].

4. FOTOCATÁLISIS

El término catálisis describe la aceleración de una reacción lenta, aceleración que se logra mediante un camino alternativo de reacción con menor energía de activación. Para ello se utilizan catalizadores como hemos dicho anteriormente, es decir, sustancias que participan en el proceso que conduce al estado activado, y no intervienen en la estequiometría de la reacción.

4.1. Fotocatálisis homogénea

El proceso de fotocatálisis homogénea surge cuando se demuestra que el peróxido de hidrógeno podía ser activado por las sales (Fe). Una revisión de 2012 asegura que la adición de sales de hierro como catalizador en presencia de peróxido de hidrógeno, también es conocida como reactivo Fenton, es uno de los métodos clásicos de producción del radical hidroxilo resultando así uno de los agentes oxidantes más potentes a pH ácidos (3-5). El hierro puede ser añadido como sal ferrosa o férrica [5]. La reacción Fenton no es fotocatálisis, pero el llamado foto-fenton sí. El empleo de la radiación UV incrementa el poder de oxidación principalmente por la foto-reducción de Fe(III) a Fe(II) la cual produce más radicales hidroxilo, la iluminación es absorbida por complejos de hierro disueltos, liberando así Fe (II) más rápido y acelerando la reacción.

4.2. Fotocatálisis heterogénea

La fotocatálisis heterogénea consiste en la utilización de un material y un fotocatalizador capaz de aprovechar la radiación solar para degradar los contaminantes del agua. Es una reacción fotoquímica que transforma energía solar en energía química sobre la superficie de un semiconductor que actúa como catalizador [4,5,6]. Cuando un fotón de energía superior a la energía de banda prohibida incide sobre el catalizador, se produce un salto de un electrón de la banda de valencia a la banda de conducción generando un hueco en la banda de valencia. Este proceso se llama fotoexcitación. El par electrón hueco generado migra hacia la superficie y allí puede reaccionar con compuestos adsorbidos o en la solución [5]. En el caso contrario se produce la fotorecombinación. El electrón es atrapado por el oxígeno generando el radical superóxido. Mientras que el hueco es atrapado por los grupos OH generando el radical hidroxilo. Estos son altamente reactivos

frente a la mayoría de los compuestos orgánicos y muchos inorgánicos por lo que reaccionan con los compuestos contaminantes en el medio generando como productos principalmente CO_2 y agua [4]. En general, el proceso consiste en la absorción directa o indirecta de energía radiante (visible o UV) por un sólido, que sería el fotocatalizador heterogéneo, normalmente es un semiconductor de banda ancha, esto quiere decir que son materiales semiconductores que tienen una banda prohibida más grande que los semiconductores convencionales [6].

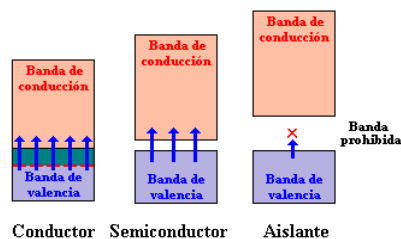


Figura 2. Distintos tipos de banda de conducción según el material. En la región interfacial entre el sólido excitado y la solución tienen lugar las reacciones de destrucción o de remoción de los contaminantes, sin que el catalizador sufra cambios químicos. La fotocatálisis heterogénea no es selectiva y puede emplearse para tratar mezclas complejas de contaminantes emergentes.

En la Figura 3 se observan los procesos químicos que ocurren en una partícula de semiconductor cuando es excitada con luz energética. Lo que ocurre en los procesos B y D es que se forman pares electrón-hueco con una vida media de nanosegundos; en este lapso migrarán a la superficie y reaccionan con especies adsorbidas [7].

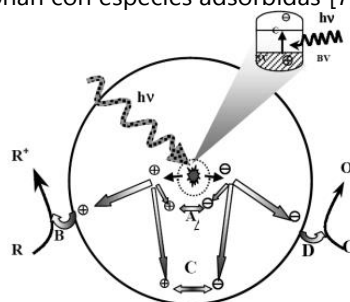


Figura 3. Procesos químicos que ocurren en un semiconductor excitado con luz energética.

En los procesos A y D, los pares electrón-hueco no alcanzan a reaccionar con especies en la superficie y se recombinan, por tanto, la energía se disipa [7].

Existen diversos materiales, económicamente asequibles, con propiedades idóneas para actuar como catalizadores, por ejemplo, TiO_2 , ZnO , CdS , óxidos de hierro, WO_3 , ZnS , etc. Uno de los fotocatalizadores más investigados hasta el momento es el TiO_2 , el cual presenta una elevada estabilidad química que lo hace apto para trabajar en un amplio rango de pH.

Normalmente, en aplicaciones ambientales, los procesos fotocatalíticos se llevan a cabo en ambientes aeróbicos, con lo cual el oxígeno absorbido es la principal especie aceptora de electrones.

➤ **Fotocatálisis heterogénea con dióxido de titanio**

El dióxido de titanio es bastante abundante en la tierra y se caracteriza por su color blanco y una baja toxicidad. La posibilidad de usar radiación solar como fuente primaria de energía le proporciona un importante valor medioambiental. Este proceso está basado en la excitación del dióxido de titanio (semiconductor de banda ancha), mediante la absorción de luz de distintas longitudes de onda. La eficiencia final de la reacción fotocatalítica va a depender de factores que determinen el grado de oxidación total de la materia orgánica [8, 11]. En un estudio de 2010, se evaluó la eficiencia de la degradación del ibuprofeno usando dióxido de titanio Degussa P-25 en suspensión o inmovilizado en anillos de vidrio. Los resultados indican que con 200 mg/L de TiO_2 y 50 mg/L de ibuprofeno se obtiene la mayor eficiencia con una remoción de 80,64% de ibuprofeno [9].

4.3. Parámetros fundamentales que influyen en la fotocatalisis [3]:

- *Características y concentración del catalizador*
- *Efecto del pH*
- *Agente oxidante (H_2O_2)*
- *Contaminante*
- *Longitud de onda*
- *Concentración de oxígeno*
- *Temperatura*

4.4. Colectores

El diseño de estos reactores ha estado enfocado básicamente a la fotocatalisis heterogénea [3]. El funcionamiento de estos colectores consiste básicamente en transformar la radiación solar en energía electroquímica. Dicha radiación es concentrada mediante superficies reflectoras, reflejándose hacia el foco del tubo absorbedor. Por dicho tubo circula el agua con los compuestos a degradar, como se muestra en la Figura 5. El fotocatalizador generalmente está inmovilizado en una capa sobre el interior del tubo de vidrio.

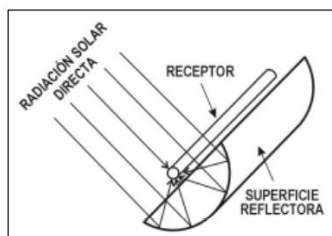


Figura 4. Esquema de colector o reactor solar.

5. CONCLUSIONES

Los procesos de oxidación permiten destruir una gran variedad de compuestos tóxicos persistentes a la degradación natural. Estos procesos han demostrado ser efectivos en la destrucción de muchos contaminantes orgánicos. De los procesos avanzados de oxidación, destacan dos tecnologías en el tratamiento de aguas residuales: la

fotocatálisis heterogénea mediada por semiconductores y la fotosensibilización con ión férrico. El empleo de la energía solar ha despertado el interés de investigadores para la eliminación de contaminantes en aguas residuales mediante el uso de un fotocatalizador adecuado. Este sistema permite aprovechar directamente la energía solar que llega a la superficie de la tierra para provocar una serie de reacciones químicas (redox) que eliminan los compuestos orgánicos en las aguas de vertidos urbanos, industriales y agrícolas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a Gerko Oskam, profesor de la asignatura de Química Ambiental en la Universidad Pablo de Olavide, por su ayuda al principio del desarrollo de la revisión para enfocarla bien.

REFERENCIAS

- [1] Castillo, J. F., Hernández, P. G., Muñoz, M. S., & Rodríguez, C. M. (2005). *Relaciones entre potenciales redox y concentraciones de sulfuros en aguas termales de Cuba*. Centro Nacional de Medicina Natural y Tradicional, Ciudad de la Habana, 20pp.
- [2] Kemmer, F. N., & McCallion, J. (1989). *Manual del agua: su naturaleza, tratamiento y aplicaciones* (No. 628.162 K4M3). McGraw-Hill.
- [3] Garcés, Luis Fernando, & Mejía, Edwin Alejandro (2004). *La fotocatalisis como alternativa para el tratamiento de aguas residuales*. Revista Lasallista de Investigación, 1(1),83-92.
- [4] Aquino Tacza, A. (2017). *Tratamiento de aguas residuales de la industria textil artesanal por fotocatalisis homogénea y heterogénea*.
- [5] Mejía, Santamaría, & Garcés, *La fotocatalisis como alternativa para el tratamiento de aguas residuales*, 2012, pág. 86
- [6] Navarro García, S. (2015). *Descontaminación de agua mediante energía solar utilizando un fotocatalizador*.
- [7] Gálvez, J. B., Rodríguez, S. M., Gasca, C. A. E., Bandala, E. R., Gelover, S., & Leal, T. (2001). *Purificación de aguas por fotocatalisis heterogénea: estado del arte*.
- [8] Web de Universidad Pablo de Olavide. *Campus virtual*. https://campusvirtual.upo.es/webapps/blackboard/content/listContent.jsp?course_id=_53477_1&content_id=_3614277_1
- [9] Papamija, M., & Sarria, V. (2010). *Degradación fotocatalítica del ibuprofeno empleando dióxido de titanio*. Revista de Ingeniería, (31), 47-53.
- [10] Medina Rojas, R. (2021). Revisión sistemática: *degradación fotocatalítica de la anilina en el tratamiento de aguas residuales textiles*.
- [11] Falla Arboleda, Y. A. (2016). Investigación documental de la fotocatalisis para la degradación compuestos orgánicos tóxicos y/o refractarios en medios acuosos y las aplicaciones adelantadas en el grupo de investigación en fotocatalisis y estado sólido (GIFES).
- [12] Torres, P. (2012). Perspectivas del tratamiento anaerobio de aguas residuales domésticas en países en desarrollo. *Revista EIA*, (18), 115-129.



Sonia Arrojo Viejo recibió el título de Biología por la Universidad de Oviedo (Principado de Asturias) en 2021. Actualmente se encuentra realizando el Máster en Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria en la Universidad Pablo de Olavide (Sevilla).

Vacunas Orales, ¿el almuerzo del futuro?

Marina Suárez-Pizarro

Resumen—Las vacunas orales son una forma fácil, cómoda, segura y eficaz de conseguir inmunidad frente a los patógenos. Sin embargo, son varias las adversidades que se les presentan a la hora de atravesar el ambiente hostil del tracto gastrointestinal. En este artículo se presentan las estrategias en las que se trabaja actualmente para solventar los problemas de transporte y liberación de vacunas orales, así como cuál es el panorama actual de estos medicamentos y qué previsiones se esperan para el futuro.

Palabras Claves— Vacuna, oral, nanopartículas, vectores, adyuvantes.

1. INTRODUCCIÓN

Las vacunas son preparaciones diseñadas para prevenir la contracción de patógenos y/o la aparición de las enfermedades asociadas a los mismos, de una manera sencilla, inocua y antes de entrar en contacto con el propio agente patogénico. Estos preparados suelen estar compuestos por el propio microorganismo patogénico, en una forma atenuada o inactivado, o en su defecto, de algunos fragmentos de este. Las vacunas persiguen la generación de una inmunidad adquirida contra la enfermedad mediante la estimulación de la producción de anticuerpos. La mayoría de las vacunas se inyectan, pero otras se ingieren (vía oral) o se nebulizan en la nariz.

Las vacunas orales, por su modo de administración, libre de agujas y de dolor, así como por su potencial para inducir una respuesta inmune efectiva tanto sistémica como a nivel de la mucosa, suponen un método de vacunación muy prometedor sobre todo para la prevención de enfermedades gastrointestinales asociadas a los alimentos y enfermedades infecciosas. Asimismo, el interés por el desarrollo de estas vacunas orales sigue creciendo debido a que la mayoría de las infecciones ocurren por la entrada del patógeno a través de la mucosa [1] y, debido a la vía de administración oral, que se cree pueda ser más seguras y menos invasivas que la administración por inyectables, se conseguiría una activación de la respuesta inmune humoral y celular a ambos niveles, sistémico y de mucosa, generando una barrera eficaz y duradera en el tiempo frente a la entrada del patógeno. Sin embargo, uno de los grandes desafíos a los que se enfrentan las vacunas orales es el ambiente hostil del tracto gastrointestinal. En los últimos años se está trabajando en métodos de transporte y liberación de estas vacunas orales, que les permita so-

brevivir al pH ácido del estómago, las enzimas proteolíticas, los jugos gastrointestinales y la barrera epitelial intestinal entre otros.

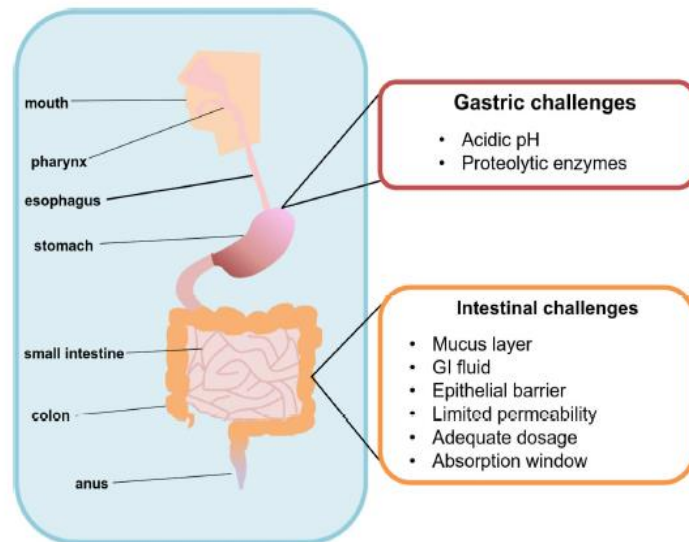


Fig. 1. Retos de las vacunas orales [1]

2. ESTRATEGIAS PARA EL TRANSPORTE Y LIBERACIÓN DE LAS VACUNAS ORALES

Uno de los mayores retos de la vacunación oral es conseguir la correcta distribución y liberación de la vacuna para alcanzar una inmunogenicidad adecuada. Son varias las estrategias en desarrollo para abordar este problema, algunas de ellas basadas en los métodos clásicos de vacunación mediante vectores virales, y otras más innovadoras con dispositivos físicos refinados y adaptados según el lugar y el momento de actuación de la vacuna (Figura 2).

2.1. Vectores virales y bacterianos

Patógenos que de forma natural infectan el tracto gastrointestinal, como *Salmonella thypi* y virus de la familia poxvirus y adenovirus, son modificados para que expresen antígenos recombinantes de otros patógenos y utilizados

como vehículos para introducir estas vacunas por la vía oral. Los adenovirus recombinantes son la estrategia más estudiada y han probado en diversos ensayos clínicos su capacidad infectiva y de replicación en la mucosa intestinal, así como la activación de la respuesta inmune celular y humoral cuando se conjugan con adyuvantes como TLR3 [2].

2.2. Micro y nanopartículas (MNPs)

Las MNPs son la estrategia de preferencia para vacunas de subunidad como proteínas y polisacárido. Además, presentan un gran potencial para las vacunas de nucleótidos (ADN y mRNA) que deben atravesar la membrana plasmática [3]. La estructura, el tamaño y las propiedades de las MNPs pueden ser modificadas y optimizadas según el destino final de la vacuna o el tipo de respuesta inmune que se quiera inducir. Los polímeros biodegradables, como el poliestireno o la poly-ε-caprolactona, suelen ser el material de referencia por su biocompatibilidad y su capacidad de liberación de la vacuna. No obstante, también se han empleado para la vacunación oral MNPs inorgánicas, de oro o sílice, cuya estructura rígida les confiere una ventaja frente al ambiente hostil gástrico.

2.3. Basadas en lípidos

Los liposomas son partículas concéntricas formadas por una bicapa lipídica de fosfolípidos y colesterol que se autoensamblan cerrando la partícula. Los liposomas protegen en su interior a los antígenos del ambiente gastrointestinal y facilitan su captación por las células presentadoras de antígenos. Los bilosomas [4], un nuevo vehículo en desarrollo, son liposomas que incorporan sales biliares en su formulación, aumentando la estabilidad e induciendo la producción de inmunoglobulina A (IgA). La última innovación en los vehículos basados en lípidos son los complejos inmunoestimuladores (ISCOMs) [5], compuestos por fosfolípidos, colesterol y saponina, que al autoensamblarse pueden capturar antígenos de la envuelta viral o bacteriana, protegiendo dichos antígenos y empleándolos para estimular al sistema inmune potenciando la respuesta inmune humoral y celular.

2.4. Dispositivos Físicos

Los dispositivos físicos se han desarrollado con la intención de conseguir permeabilizar la barrera de la piel para una administración más fácil de la vacuna, así como para contar con la posibilidad de depositarla en el lugar de interés para su posterior liberación.

2.4.1. Cavidad Oral

La cavidad oral es una de las vías de administración mediante dispositivos físicos que mayor interés genera entre

los investigadores debido a su fácil accesibilidad que permite una mayor flexibilidad a la hora de diseñar el dispositivo. Se están desarrollando arrays de microagujas que penetran en el epitelio o en la mucosa bucal y liberan la vacuna facilitando su llegada a las células presentadoras de antígenos [6]. También se está trabajando en el desarrollo de jets líquidos de alta presión, como el MucoJet, que libera la vacuna cuando se coloca contra el tejido bucal, siendo un dispositivo de autoadministración mínimamente invasivo [7].

2.4.2. Estómago e Intestino

En el caso de los dispositivos para liberar la vacuna en el estómago o en el intestino, se precisa de un mecanismo de liberación en el lugar deseado, por lo que son más sofisticados que los dispositivos de la cavidad oral. En el caso del estómago, se ha desarrollado un dispositivo, SOMA [8], que se trata de una cápsula ingerible que inserta un millipost sólido que se posteriormente se disuelve liberando la droga en la pared gástrica. SOMA ya ha demostrado su eficacia para la liberación y absorción de la insulina y es cuestión de tiempo que se pruebe para otro tipo de compuestos. Otro dispositivo es LUMI [9], en este caso, para la liberación intestinal, se compone de 3 brazos plegados en una cápsula ingerible que cuando llega al intestino permite el despliegue de los brazos que poseen microagujas que inyectan la droga en la mucosa intestinal. Tanto SOMA como LUMI basan su mecanismo en el contacto con los fluidos gástricos o intestinales que permiten disolver el vehículo y liberar la droga.

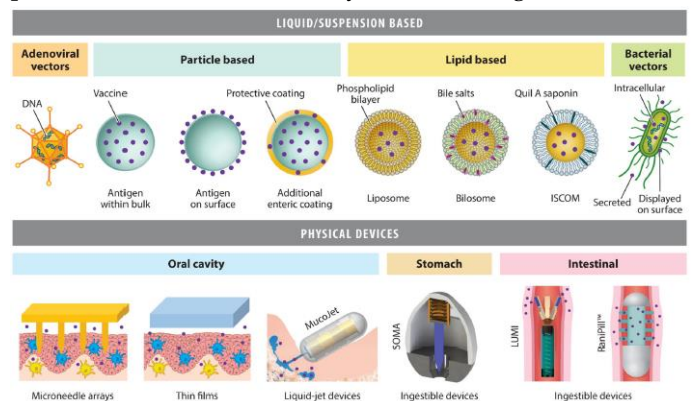


Fig. 2. Estrategias para transporte y liberación de vacunas orales [10]

2.5. Adyuvantes de nueva generación

La combinación de la partícula inmunogénica con adyuvantes o sustancias que potencien la respuesta inmune es una de las estrategias que más se está explorando en la actualidad. Algunos de los adyuvantes que han sido propuestos como candidatos prometedores son el uso de células M, ligandos de receptores expresados por las células

del epitelio intestinal, la mimetización de PAMPs y DAMPs y agonistas de TLRs como el TLR-4 y TLR-2 [1]. Estos últimos son los que están ganando importancia en el desarrollo de las vacunas orales. La mayoría de los agonistas de TLR son derivados de los propios patógenos. La administración conjunta de la vacuna junto con un agonista de TLR-2 o TLR-4 ha demostrado ser eficaz a la hora de atarvesar la barrera intestinal. La activación de los TLR permitiría una activación de la respuesta inmune innata que pondría en marcha el proceso inmunológico favoreciendo la posterior respuesta adaptativa frente al compuesto de la vacuna.

3. VACUNAS ORALES. PERSPECTIVA ACTUAL.

A pesar del constante trabajo e investigación dedicado a la optimización de las vacunas orales debido a su gran potencial, actualmente sólo se han aprobado vacunas orales basadas en organismos completos, atenuados o inactivados, que presentan un ciclo de vida confinado al tracto gastrointestinal (Tabla 1). Se están llevando a cabo ensayos clínicos para investigar la inmunidad contra enfermedades no relacionadas con el tracto gastrointestinal, como la gripe, mediante el uso de vacunas orales con o sin adyuvantes, como vacunas de ADN y ARN, aunque aún no han sido aprobadas para su uso comercial. A pesar de los numerosos desafíos que acompañan la inmunización por la vía oral, la existencia de no una, sino varias vacunas orales ya aprobadas para el uso clínico, demuestra que la inmunización oral es un objetivo real y asequible. Las vacunas orales ya aprobadas han demostrado ser seguras y capaces de promover una respuesta inmune efectiva y duradera, incluyendo la producción de anticuerpos en sangre y mucosas, así como células T de memoria [1].

TABLA 1
VACUNAS ORALES APROBADAS PARA USO CLÍNICO

Clinically approved oral vaccines

Disease (pathogen)	Vaccine	Antigen/vaccine type	Adjuvant	Formulation
Cholera (<i>Vibrio cholerae</i>)	Dukoral	Inactivated <i>V. cholerae</i> recombinant CTB	NA (CTB)	Liquid
	Vaxchora	Live-attenuated <i>V. cholerae</i> O1 Inaba 569B strain	NA	Liquid
Gastroenteritis (rotavirus)	RotaRix	Live-attenuated	NA	Liquid
	RotaTeq	Live-attenuated pentavalent reassortment human/bovine viruses G1, G2, G3, G4, and P1A[8]	NA	Liquid
Polio	Orimune	Live-attenuated poliovirus serotypes Sabin 1, 2, and 3	NA	Liquid
Typhoid fever (<i>Salmonella typhi</i>)	Vivotif	Live-attenuated <i>S. typhi</i>	NA	Enteric capsule
Acute respiratory syndrome (adenovirus)	Approved for military populations only	Adenovirus types 4 and 7	NA	Enteric capsule

Abbreviations: CTB, cholera toxin B; NA, not applicable.

4. CONCLUSIONES

Las vacunas orales, debido a su fácil y cómoda administración, libre de agujas y de dolor, y a su ya demostrada inmunogenicidad y seguridad, son un campo en estudio que se encuentra en continuo avance con el objetivo de optimizar dichas preparaciones para proteger-

las del ambiente gastrointestinal, favorecer su llegada al lugar de acción y facilitar la autovacunación por parte del consumidor. Actualmente, tanto los humanos como los animales dependen de las campañas de vacunación locales o sistémicas. Con la llegada de las vacunas orales, la vacunación podría conseguirse de manera rutinaria mediante la consumición del producto con los alimentos. Esto podría conseguirse transformando las plantas para que expresen el antígeno de interés para la vacuna, siendo las propias plantas los biorreactores o bio-factorías de producción de estas vacunas comestibles. Otras de las ventajas de las vacunas orales son que serían fácilmente distribuibles y almacenables, la administración a poblaciones vulnerables, como pueden ser los bebés e infantes, también se vería simplificada y se mantendría e incluso mejoraría la respuesta inmune frente al patógeno por verse bloqueada la vía principal de acceso al organismo para la mayoría de los microorganismos, el tracto gastrointestinal, que estaría familiarizado e inmunizado frente al patógeno.

No obstante, aún son varios los retos a los que se expone la vacunación oral, desde dificultades técnicas y tecnológicas hasta impedimentos éticos o de aceptación por la sociedad. Sin embargo, es una época dorada para el avance en la tecnología que engloba a las vacunas y es cuestión de tiempo que se encuentre la estrategia óptima para el transporte, protección, liberación y obtención de la máxima eficacia de las vacunas orales.

REFERENCIAS

- [1] Ramirez J. E. V., Sharpe L. A., & Peppas N. A. Current state and challenges in developing oral vaccines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017; 114, 116-131.
- [2] Peters W, Brandl JR, Lindbloom JD, Martinez CJ, Scallan CD, Trager GR, et al. Oral administration of an adenovirus vector encoding both an avian influenza A hemagglutinin and a TLR3 ligand induces antigen specific granzyme B and IFN- γ T cell responses in humans. *Vaccine [Internet]*. 2013;31(13):1752-8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.01.023>
- [3] He XW, Wang F, Jiang L, Li J, Liu SK, Xiao ZY, et al. Induction of mucosal and systemic immune response by single-dose oral immunization with biodegradable microparticles containing DNA encoding HBsAg. *J Gen Virol.* 2005;86(3):601-10.
- [4] Mann JFS, Scales HE, Shakir E, Alexander J, Carter KC, Mullen AB, et al. Oral delivery of tetanus toxoid using vesicles containing bile salts (bilosomes) induces significant systemic and mucosal immunity. *Meth. ods.* 2006;38(2):90-5.
- [5] Gregory AE, Titball R, Williamson D. Vaccine delivery using nanoparticles. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013;4(MAR):1-13.
- [6] Creighton R. L., & Woodrow K. A. Microneedle-mediated vaccine delivery to the oral mucosa. *Adv. Healthc. Mater.* 2019;8(4), 1801180.
- [7] Van Der Lubben IM, Verhoef JC, Van Aelst AC, Borchard G, Junginger HE. Chitosan microparticles for oral vaccination: Preparation, characterization and preliminary in vivo uptake studies in murine Peyer's patch-

- es. *Biomaterials*. 2001;22(7):687-94.
- [8] Abramson A., Caffarel-Salvador E., Khang M., Dellal D., Silverstein D., Gao Y. et al. An ingestible self-orienting system for oral delivery of macromolecules. *Science*. 2019;363(6427), 611-615.
- [9] Abramson A., Caffarel-Salvador E., Soares V., Minahan D., Tian R. Y., Lu X. et al. A luminal unfolding microneedle injector for oral delivery of macromolecules. *Nat. Med.* 2019; 25(10), 1512-1518.
- [10] Coffey J. W., Gaiha G. D., Traverso G. Oral biologic delivery: advances toward oral subunit, DNA, and mRNA vaccines and the potential for mass vaccination during pandemics. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2021;61, 517-540.



Marina Suárez-Pizarro recibió el título en Biomedicina Básica y Experimental por la Universidad de Sevilla en 2021. Actualmente se encuentra cursando el máster en Biotecnología Sanitaria impartido por la Universidad Pablo de Olavide.

Microalgas, inspiración de futuros fármacos

Silvia Rodríguez Rodríguez

Resumen— Las algas presentan diversos rasgos que hacen que sean ideales para su empleo en fármacos, algo que ya está siendo ampliamente investigado. En este artículo se hace un breve recorrido por el gran potencial que presentan las algas, y se exponen diversos compuestos bioactivos relevantes en la fabricación de futuros fármacos.

Palabras Claves— cáncer, compuestos bioactivos, enfermedades respiratorias, fármacos, microalgas

1. INTRODUCCIÓN

Las algas son atractivos anfitriones para la producción de biofarmacéuticos debido a sus singulares ventajas que incluyen bajo costo de producción, ausencia de compuestos tóxicos en muchas especies y su uso potencial como vehículos de administración oral. Vacunas funcionales, anticuerpos, péptidos antimicrobianos, factores de crecimiento, citoquinas y hormonas se han producido en especies de algas hasta el momento.

Las microalgas son un gran grupo de fitoplancton autótrofo. Se distribuyen por todo el medio ambiente, donde representan la mayor parte de los organismos vivos en aguas terrestres y marinas. Se pueden clasificar según su procedencia en algas de agua dulce y marinas.

Las microalgas poseen propiedades que las hacen interesantes para la producción y administración oral de productos biofarmacéuticos. Además, la disponibilidad y la rentabilidad de las microalgas las hacen perfectas para la búsqueda de nuevos fármacos. Varios tipos de biomoléculas extraídas y caracterizadas de las microalgas han mostrado un eficaz efecto antitumoral y antiproliferativo. Varios tipos de tales compuestos contenían subproductos biológicamente activos como carotenoides, polisacáridos naturales o sulfatados, derivados de fenol, esterol, péptidos depsi, policétidos que contienen metales y varios tipos de alcaloides y estilodiolos. Casi todos estos compuestos son capaces de inducir la muerte celular mediante la activación de la ruta apoptótica de las caspasas, la inhibición de la nucleación de microtúbulos de las células o la activación de las rutas independientes de las caspasas intercelulares [1].

2. POSIBLE TRATAMIENTO CONTRA EL CÁNCER

El cáncer es una enfermedad que se caracteriza por una división celular incontrolada, donde además las células cancerosas “pierden” la capacidad de morir. Según los datos ofrecidos por el Instituto Nacional de Estadística (INE), el cáncer constituye la segunda causa de muerte, detrás de las enfermedades cardiovasculares. Referente a la incidencia de la enfermedad, a nivel mundial se con-

firma una tendencia creciente. Los casos aumentan en cifras de millones y se pronostica que seguirán aumentando en las próximas décadas, llegando a incrementarse los casos en un 50% y acercándose la cifra a los 30 millones en el año 2040 (Figura 1).

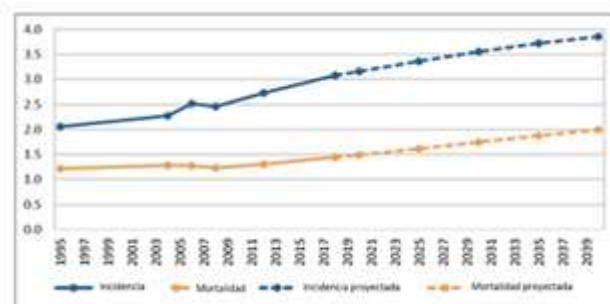


Fig. 1. Incidencia del cáncer y mortalidad en Europa. Casos reales 1995-2018. Proyección: 2040. Cris Cáncer, 2020.

Recientemente, se ha descubierto que las propiedades anticancerígenas de algunos recursos derivados de algas modulan varios mecanismos celulares, como la citotoxicación celular, la regulación negativa de la invasión de células tumorales y la mejora de la apoptosis de las células cancerosas [2].

2.1. Compuestos bioactivos

En los últimos años se ha descubierto que las microalgas poseen compuestos bioactivos con diversos beneficios para la salud humana, beneficiando el sistema inmunológico, con capacidad antioxidante y antiinflamatoria, actividad contra el cáncer y mejorando el sistema cardiovascular.

Un ejemplo de ello es la fucoxantina, un carotenoide presente en las microalgas, las diatomeas y las algas pardas, que mostró potentes propiedades anticancerígenas a través de la prevención del crecimiento de células malignas, la estimulación de genes supresores del cáncer y la detención de los ciclos celulares. Por otro lado, las microalgas verdeazuladas o cianobacterias son neurotoxinas bien conocidas, de las cuales se aíslan muchos bioproductos activos. Por ejemplo, Cryptophycin 1 se extrae de la especie *Nostoc GSV 224*, que también mostró actividad antitumoral contra tumores sólidos y líneas de células tumo-

rales humanas [3].

Los péptidos de las microalgas también poseen capacidad antitumoral. Por ejemplo, el péptido de *C. vulgaris* es capaz de inhibir células de carcinoma gástrico y además prevención del crecimiento celular. Las dolastatinas son otros posibles agentes anticancerígenos producidos aislados de las especies de *Lyngbya* y *Symploca*, que exhibieron efectos de inhibición en líneas celulares de carcinoma de colon y ovario [4].

3. POSIBLE TRATAMIENTO CONTRA ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

Los trastornos respiratorios causados por contaminantes del aire son un grave problema. Estudios han demostrado que las algas podrían inhibir significativamente la inflamación respiratoria contra los contaminantes del aire, pudiendo llegar a considerarse como un tratamiento alternativo.

Las algas pardas contribuyen más a la antiinflamación en comparación con las algas rojas y verdes, debido a la presencia de diferentes metabolitos bioactivos. El fucosterol de *S. binderi* es el fitosterol más abundante que ha demostrado tener efectos antiinflamatorios contra el daño inducido por partículas del aire en las células epiteliales basales alveolares. Se encuentra que actúa principalmente a través de la reducción del daño en el ADN a nivel celular. Como la inflamación conduce a la apoptosis estimulada por el estrés oxidativo, el fucosterol disminuye significativamente la regulación positiva de los mediadores inflamatorios: COX-2, PGE2, iNOS, citoquinas proinflamatorias, TNF- α , IL-6 e IL-1 β al inhibir las vías NF- κ B y MAPK [5].

Los polisacáridos se consideran el grupo más grande de compuestos con actividades biológicas en las algas, aproximadamente el 60 % de los metabolitos. Son compuestos hidrosolubles con propiedades hidrofílicas y tienen una estructura regular que varía de lineal a altamente ramificada. Los ejemplos de los principales compuestos de polisacáridos incluyen alginatos, fucoïdanos, ulvanos, carragenanos y laminaranos. El ácido algínico, un polisacárido no sulfatado del alga parda *S. horneri*, cuando se probó contra las respuestas inflamatorias estimuladas por polvo en suspensión en HaCaT (queratinocitos humanos) y macrófagos de ratón, mostró efectos antiinflamatorios [6].

4. CONCLUSIÓN

Las microalgas presentan un tremendo potencial para nuevos compuestos bioactivos con efectos que promueven la salud. Un campo en el que se necesitan nuevas terapias es la terapia del cáncer. Sin embargo, se requieren más estudios para comprender los objetivos básicos y las vías detrás de la citotoxicidad de estos compuestos en las células cancerosas. Todavía se necesitan varias investigaciones biológicas y moleculares avanzadas sobre el papel y la eficacia de tales compuestos anticancerígenos deriva-

dos de algas junto con su caracterización. Además, se deben llevar a cabo extensas investigaciones, in-vitro o in-vivo, sobre los compuestos bioactivos de las microalgas para evaluar sus posibles aplicaciones contra una amplia gama de tipos de cancer y otros tipos de enfermedades, tales como las enfermedades respiratorias.

REFERENCIAS

- [1] Sergio Rosales-Mendoza, Karla I. Solís-Andrade, Verónica A. Márquez-Escobar, Omar González-Ortega & Bernardo Bañuelos-Hernandez. "Current advances in the algae-made biopharmaceuticals field" *Expert Opinion on Biological Therapy*, vol. 20, no. 7, pp. 751-766, March 2020, <https://doi.org/10.1080/14712598.2020.1739643>
- [2] El-Hack M., Abdelnour S., Alagawany M., Abdo M., Sakr M., Khafaga A., Mahgoub S., Elnesr S. and Gebriel M. M "Microalgae in modern cancer therapy: Current knowledge" *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol 111, pp. 42-50, March 2019, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.069>
- [3] Martínez Andrade K.A., Lauritano C., Romano G. and Ianora A. "Marine Microalgae with Anti-Cancer Properties". *Mar Drugs*, vol. 15, no. 5, May 2018, doi: 10.3390/md16050165.
- [4] Mondal A, Bose S, Banerjee S, Patra JK, Malik J, Mandal SK, Kilpatrick KL, Das G, Kerry RG, Fimognari C, Bishayee A. Marine "Cyanobacteria and Microalgae Metabolites-A Rich Source of Potential Anticancer Drugs." *Mar Drugs*, vol 18, no. 9, Sep 2020. doi: 10.3390/md18090476.
- [5] Ávila-Román J, García-Gil S, Rodríguez-Luna A, Motilva V, Talero E. "Anti-Inflammatory and Anticancer Effects of Microalgal Carotenoids." *Mar Drugs*, vol. 19, no. 10, 2021 Sep doi: 10.3390/md19100531.
- [6] Tan PX, Thiyagarasaiyar K, Tan CY, Jeon YJ, Nadzir MSM, Wu YJ, Low LE, Atanasov AG, Ming LC, Liew KB, Goh BH, Yow YY. "Algae-Derived Anti-Inflammatory Compounds against Particulate Matters-Induced Respiratory Diseases: A Systematic Review." *Mar Drugs*, vol 19, no. 6, 2021 May. doi: 10.3390/md19060317.



Silvia Rodríguez Rodríguez recibió el título de Biología por la Universidad de Granada en 2021. Actualmente se encuentra cursando la modalidad de Nuevos Fármacos del Máster en Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

Bacteriófagos: la prometedora solución para la resistencia antimicrobiana

Celia Inmaculada Atalaya Rey

Resumen—La resistencia antimicrobiana es una de las principales amenazas para la salud pública actual y junto a la expansión de bacterias multirresistentes a nivel mundial ha propiciado la escasez de antibióticos eficaces. Se están llevando a cabo investigaciones prometedoras para el desarrollo de nuevas terapias alternativas al tratamiento convencional, entre las que destaca el uso de bacteriófagos para la terapia fágica o el uso de enzimas provenientes de estos virus.

Palabras Claves— Bacteriófagos, Bacterias superresistentes, Endolisinas, Resistencia antimicrobiana, Terapia fágica.

1. INTRODUCCIÓN

El último análisis exhaustivo sobre el impacto global de la resistencia antimicrobiana (RAM) publicado en *The Lancet* y realizado por Murray y colaboradores (2022) indica que en 2019, más de 1.2 millones de personas a nivel mundial murieron debido a infecciones causadas por bacterias resistentes a antibióticos. Estos datos superan con creces las muertes anuales registradas por enfermedades como la malaria o el SIDA, que tan solo en 2019 fueron responsables de 860000 y 640000 muertes, respectivamente. Además, de forma indirecta, las infecciones causadas por estas bacterias resistentes fueron partícipes 4.95 millones de muertes. Otro estudio realizado anteriormente por Jim O'Neill (2016) ya afirmaba que si no se interviene en esta situación, la cifra de vidas que se cobrará la RAM ascenderá hasta los 10 millones anuales en el año 2050, mucho más letal que el cáncer. Por todo esto, la organización mundial de la salud (OMS) ha declarado la resistencia antimicrobiana como una de las 10 principales amenazas de salud pública a la que actualmente hacemos frente a nivel mundial [3].

La aparición de RAM se remonta a las primeras aplicaciones de tratamientos antimicrobianos en el siglo XX, pero este problema se ha agravado por múltiples razones como el uso excesivo e inadecuado de antibióticos, tanto en humanos como en animales, o la falta de medidas de prevención y control de infecciones. Debido a la amenaza que supone la RAM, se están invirtiendo numerosos recursos en el descubrimiento de nuevos medicamentos, además de concienciar a la población del uso adecuado de los medicamentos ya existentes para no empeorar la situación en la medida de lo posible. Como se ha mencionado anteriormente, uno de los detonantes del panorama actual es el abuso de antibióticos, concretamente en el tratamiento de infecciones livianas, lo cual ha favorecido la aparición de bacterias resistentes y la reducción de la eficiencia de medicamentos frente a otras infecciones de mayor gravedad. Todo esto implica que, infecciones comunes que antes eran tratables – como infecciones de las vías respiratorias inferiores y del torrente sanguíneo – ,

hoy en día sean responsables de cuantiosas pérdidas de vidas [1]. Las siete bacterias resistentes a antibióticos implicadas en más muertes por RAM son *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Mycobacterium tuberculosis*. En la figura 1 se muestra la representación gráfica del impacto global de la resistencia a uno de los antibióticos más utilizados, los carbapenémicos, por parte de la bacteria nosocomial *A. baumannii* [1].

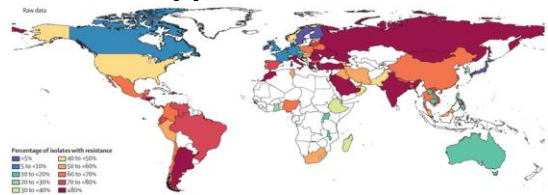


Fig. 1. Incidencia de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos a nivel mundial [1].

2. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

2.1. Resistencia antimicrobiana (RAM)

La RAM es la presencia de resistencia a los medicamentos antimicrobianos en agentes infecciosos, como bacterias, virus, hongos y parásitos, y puede ser inherente o adquirida por el uso inadecuado de los medicamentos (CDC).

Los antibióticos tienen como principal objetivo eliminar las bacterias infecciosas, pero en algunos casos las bacterias pueden ser resistentes y sobrevivir. Estas bacterias resistentes a antibióticos se multiplican y pueden transmitir su resistencia a otras que antes no poseían esta capacidad de forma intrínseca. Es decir, las bacterias están continuamente desarrollando nuevas estrategias de defensa o mecanismos de resistencia para evadir el efecto de los antibióticos. El ADN bacteriano contiene información para la síntesis de proteínas específicas que determinan mecanismos de resistencia de la bacteria, los cuales pueden variar con el tiempo y aumentar la resistencia. La gravedad de estos mecanismos está en que estas bacterias resistentes pueden transmitir sus genes de resistencia a otras bacterias que no hayan sido expuestas previamente

a antibióticos, expandiendo así la resistencia incluso sin haber usado el antibiótico. En los casos más extremos, se encuentran bacterias resistentes a todos los antibióticos disponibles en el campo clínico, ya que estas contienen la combinación adecuada de estos genes de resistencia que las hacen intratables [4]. Existen diferentes tipos de antibióticos entre los que encontramos penicilinas, sulfonamidas, fluoroquinolonas, carbapenémicos y tetraciclinas, entre otros. Cada uno de estos antibióticos tiene una forma de acción y diana diferente, por lo que las bacterias pueden desarrollar diferentes formas de resistencia como:

1. Desarrollo de nuevos procesos celulares que no utilicen las dianas atacadas por el antibiótico
2. Modificación o degradación del antibiótico con enzimas bacterianas
3. Restricción del acceso del fármaco modificando las vías de acceso o limitando el número de entradas del fármaco
4. Uso de bombas de expulsión de antibióticos
5. Modificación de la diana del antibiótico para evitar que este pueda interaccionar con ella

Las bacterias supervivientes que desarrollan resistencia pueden dar lugar a que estos mecanismos de resistencia se hereden de generación en generación o incluso pueden pasar directamente de una bacteria a otra mediante elementos genéticos móviles: plásmidos, transposones y bacteriófagos [4].



Fig. 2. Placas de cultivo bacteriano en presencia de discos con varios antibióticos. A la izquierda, una placa con varios halos de inhibición causados por los antibióticos probados, mientras que a la derecha no se aprecian apenas halos de inhibición, mostrando cepas resistentes a los medicamentos utilizados. Fuente: Science History Images/Alamy

2.2. Bacterias superresistentes

Aunque la aparición de cepas bacterianas resistentes a ciertos antibióticos se remonta a varias décadas pasadas, en los últimos años estas bacterias están pasando a ser llamadas superbacterias, ya que han conseguido desarrollar resistencia a todos los antibióticos disponibles en la actualidad. Estas superbacterias pueden propagarse a través de países y continentes a través de personas, animales y bienes, por lo que es muy difícil controlar su expansión.

El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) establece una clasificación en función de la gravedad de la amenaza que suponen estas bacterias superresistentes. En la clasificación más urgente encontramos *Acinetobacter* resistente a carbapenémicos, *Candida auris*, *Clostridioides difficile*, *Enterobacterales* resistente a carbapenémicos y *Neisseria gonorrhoeae*. En la siguiente

categoría de gravedad encontramos otra serie de bacterias que causan infecciones muy comunes como *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Salmonella serotype Typhi* o *Pseudomonas aeruginosa* [4].

2.3. Nuevas terapias en desarrollo alternativas a los antibióticos convencionales

Como se ha mencionado anteriormente, la presencia de RAM en nuestra sociedad tiene un grave impacto en la salud a nivel mundial, además de afectar de forma indirecta a otros procesos clínicos como cirugías y quimioterapia, ya que en este tipo de tratamientos es fundamental el control de infecciones, por lo que, sin antibióticos eficaces, los pacientes afectados corren un mayor riesgo. Los avances en biotecnología, ingeniería genética y química sintética las ramas de la ciencia que abren paso hacia la búsqueda y desarrollo de terapias que sustituyan a los antibióticos para solventar este problema sanitario. Actualmente existen varias alternativas en la naturaleza, sin embargo, la dificultad reside en implementarlas al uso clínico. Entre ellas encontramos bacteriófagos, anticuerpos, vacunas, probióticos, péptidos antimicrobianos y técnicas de modificación genética como CRISPR-Cas, estando la mayoría de ellas bajo ensayos clínicos [4], [5].

3. BACTERIÓFAGOS COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA

3.1. Bacteriófagos

Los bacteriófagos o fagos son entidades biológicas sin vida, es decir, una clase de virus muy simple, pero de una gran diversidad, y consisten en ADN o ARN contenido dentro de una cápsula proteica. Como todos los virus, estos fagos no pueden reproducirse por sí mismos, siendo totalmente dependientes de la bacteria huésped para poder sobrevivir. Para ello, estos fagos se unen a receptores específicos en la superficie de la célula bacteriana e inyectan su material genético dentro de la célula huésped. Una vez inyectado su material genético, este puede incorporarse al genoma bacteriano y reproducirse verticalmente de la célula original a las células hijas, o puede hacerse con el control de la maquinaria de replicación de la célula infectada y producir una nueva generación de fagos que serán liberados lisando la célula. Estos son los dos posibles ciclos de vida que siguen los bacteriófagos, conocidos respectivamente como ciclo lisogénico y ciclo lítico [6].

La especificidad de los fagos está en que muchos de ellos solo pueden infectar aquellas bacterias cuyas células presenten el receptor específico, por lo que la especificidad de huésped cambia entre fagos, que pueden ser específicos de cepas o al contrario, ser capaces de infectar una gran variedad de cepas e incluso géneros [6]. Estos fagos tienen un gran futuro como posible fármaco, ya que pueden inhalarse, inyectarse, ingerirse o aplicarse directamente sobre la piel. Además, cuentan con la ventaja de su especificidad, por lo que solo interaccionan con las bacterias causantes de la enfermedad para la que están dirigidas, por lo que no hay efectos secundarios en las

bacterias “buenas” del paciente, como las propias de la microbiota [7].

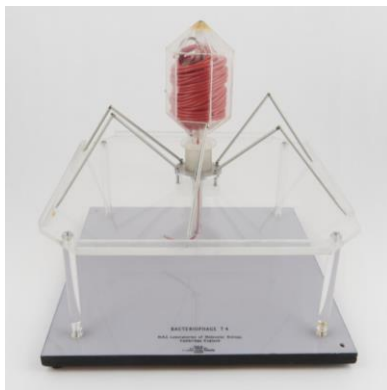


Fig. 3. Modelo de bacteriófago T4 en caja de plexiglás. Fuente: Laboratorio de Biología Molecular de Cambridge.

3.2. Terapia fágica

La terapia fágica o fagoterapia consiste en el uso de bacteriófagos para tratar las infecciones bacterianas. Aunque la eficacia de los bacteriófagos frente a las infecciones bacterianas se conocía desde hace casi un siglo, hasta hace poco no se le ha dado la importancia que merecen debido a la falta de antibióticos efectivos actualmente. En 1919 se aplicó exitosamente el primer tratamiento contra *Shigella dysenteriae* utilizando estos virus. Sin embargo, la falta de conocimiento sobre ellos en el momento de su descubrimiento hizo que se dejaran de lado tras el descubrimiento de la penicilina. Por tanto, el estar alcanzando el fin de la gama de antibióticos disponibles puede significar un cambio cultural y científico a nivel mundial en el tratamiento de enfermedades infecciosas que lleve a nuestra sociedad a la era de la medicina anterior a la existencia de estos medicamentos [6].

De forma convencional, la terapia fágica se basa en el uso de fagos en su estado natural para infectar y lisar la bacteria en el sitio en el que ésta causa la infección. Sin embargo, los avances biotecnológicos han permitido mejorar esta terapia aumentando el potencial de estos fagos mediante bioingeniería y la purificación de proteínas líticas procedentes de estos fagos [6]. Estos avances tanto en tecnologías de secuenciación como en biología molecular han dado lugar al desarrollo de fagos modificados genéticamente que son eficaces para eliminar bacterias resistentes a antibióticos, pudiendo restaurar eficazmente la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos, disminuir el valor de la concentración mínima inhibitoria (MIC) de los antibióticos y dirigirse a la supresión de genes esenciales en las bacterias presentes en el huésped [8].

Recientemente, se registró el primer caso exitoso de terapia fágica en un paciente en inmunoterapia infectado con *Mycobacterium chelonae* multirresistente. Este tipo de infecciones causan graves problemas y pueden suponer la muerte del paciente. En este caso, se utilizó una combinación de antimicrobianos, cirugía y terapia fágica. El paciente presentó anticuerpos neutrazizantes contra el bacteriófago, pero no hay evidencias de resistencia bacteriana al fago por parte de la bacteria multirresistente [9].

3.3. Endolisinas

Una alternativa al uso de bacteriófagos en su forma natural es el uso de lisinas provenientes de estos virus para usarlas directamente contra la bacteria. Son una herramienta muy potente: cantidades muy bajas puede destruir millones de bacterias en segundos. A pesar de que las lisinas de origen natural son prometedoras, se están realizando investigaciones de ingeniería genética para modificarlas y que puedan destruir más de un tipo de bacterias, aumentando así su potencial [7].

Una vez que ocurre la infección bacteriana, los fagos expresan genes tóxicos que dan lugar a enzimas específicas que participan en la escisión de peptidoglicanos bacterianos. Son estas enzimas las que se pretenden aislar y producir de forma específica para combatir estas infecciones [8].

3.4. Sinergia fago-antibiótico (PAS)

La sinergia fago-antibiótico se refiere al efecto que tienen concentraciones subletales de antibióticos de potenciar la liberación de los fagos reproducidos en la célula bacteriana huésped. Esta estrategia que combina el uso de fagos y antibióticos es muy prometedora al permitir reducir la dosis de antibiótico necesaria y, por tanto, el desarrollo de resistencia a los mismos durante el tratamiento. Se ha demostrado que la interacción entre el fago y el antibiótico depende del tipo de fago o antibiótico que se utilice, ya que, por ejemplo, en el caso de la combinación con rifampicina, se observan resultados negativos en la combinación con fagos, ya que este antibiótico impide la expresión de RNA polimerasa, la cuál será necesaria para completar el ciclo lítico del fago [8].

Cabe destacar su utilidad frente a los biofilm, que son comunidades bacterianas adheridas a una superficie, la cual puede ser abiótica o biótica, entre los que encontramos implantes médicos como catéteres y articulaciones artificiales. Esta comunidad se encuentra encapsulada en una matriz extracelular que contiene sustancias que permiten su adhesión a superficies y proporcionan protección contra los antibióticos. Estos biofilm suponen un reservorio peligroso de bacterias persistentes que presentan variación fenotípica y proporcionan resistencia a los antibióticos sin mutaciones genéticas ni genes de resistencia, por lo que son más difíciles de erradicar que otras bacterias que no formen parte de una comunidad [8].

4. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO DE BACTERIÓFAGOS FRENTE A LOS ANTIBIÓTICOS

Tanto las terapias basadas en antibióticos como las basadas en fagos tienen sus limitaciones y por tanto presentan ventajas y desventajas. La capacidad de estos fagos para contrarrestar las bacterias multirresistentes presenta ventajas frente a los antibióticos, entre las que encontramos una alta especificidad, baja dosis, bajo coste de producción, alta seguridad clínica y actividad contra los biofilm. Además, por su parte, el uso conjunto de antibióticos y fagos presenta otras ventajas como una mayor supresión bacteriana, una mayor penetración efectiva en biofilm y

una menor capacidad de la bacteria de desarrollar resistencia tanto al fago como al antibiótico. Otra ventaja del uso de fagos es que pueden ejercer presión selectiva sobre las bacterias diana, de forma que las predispone a sufrir mutaciones genéticas que impliquen una regulación a la baja de genes relacionados con la toxicidad de la bacteria, su sensibilidad a fármacos o factores de crecimiento. Así se conseguiría que las cepas que presenten resistencia a estos fagos mediante mutaciones sean generalmente menos patógenas y más sensibles a los antibióticos que aquellas cepas silvestres no tratadas con fagos previamente [8]. En resumen, las ventajas de la fagoterapia frente al uso de antibióticos se resumen a continuación:

1. La acción de los fagos y endolisinas es rápida y específica, por lo que en casos clínicos de infecciones bacterianas solo afectarían a aquellas patógenas causantes de la enfermedad, pero sin modificar ni alterar nuestra microbiota. Mientras tanto, tras un tratamiento con antibióticos normalmente es necesario un tratamiento complementario con probióticos para repoblar la microbiota del paciente.
2. En fagoterapia se suele escoger un conjunto de los fagos más activos contra la bacteria específica que está produciendo la enfermedad, reduciéndose mucho la probabilidad de que la bacteria pueda adquirir mutaciones frente a estos fagos.
3. Debido a la ubicuidad y la gran variedad de fagos, la obtención y purificación de estos es una tarea sencilla, rápida y barata. Además, gracias a esta diversidad biológica, suponen una fuente rica de nuevos agentes antimicrobianos que permiten el desarrollo de moléculas terapéuticas específicas adaptadas a las necesidades de cada infección en particular.

Cabe destacar que el uso de endolisinas quizás tenga más futuro que el uso de fagos en su forma natural, ya que tendrá una mejor acogida social y clínica una proteína obtenida de un sistema de expresión recombinante que un virus modificado genéticamente, por la connotación negativa que suele acompañar a este término.

Una de las desventajas más preocupantes es que las bacterias pueden desarrollar resistencia frente a estos fagos, aunque esto puede solucionarse aplicando terapias del tipo PAS, el cuál limita eficazmente la producción de factores de virulencia por parte de las bacterias patógenas [8].

5. CONCLUSIONES

No cabe duda de que la resistencia antimicrobiana se puede definir como una pandemia silenciosa que sigue extendiéndose poco a poco en nuestra sociedad y que si no se actúa de forma inmediata puede tener graves consecuencias en un futuro no muy lejano. Por tanto, a pesar de que aún se necesita más conocimiento sobre la interacción entre fagos, bacterias y humanos, ha llegado el momento de considerar la fagoterapia como una potente alternativa para combatir las bacterias multirresistentes. Hay múltiples alternativas para el tratamiento con fagos: su uso directo, el uso de fagos modificados genéticamente,

el uso de enzimas procedentes de fagos o la combinación de antibióticos y fagos. Se ha observado que la última alternativa, la combinación del tratamiento convencional con antibióticos y el uso de fagos proporciona mejores resultados que la aplicación de estas terapias de forma aislada. Aunque la fagoterapia solo se está utilizando actualmente en casos puntuales de gran emergencia, la era post-antibiótica puede estar acercándose lentamente y la sociedad actual debe empezar a prepararse para enfrentarse a un mundo sin antibióticos eficaces, siendo necesario aumentar el número de investigaciones en este campo de la terapia fágica.

REFERENCIAS

- [1] C. J. Murray *et al.*, "Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis," *Lancet*, vol. 399, no. 10325, pp. 629–655, 2022, doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
- [2] J. O'Neill, "Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations," *Rev. Antimicrob. Resist.*, no. December, pp. 1–16, 2016.
- [3] "Resistencia a los antimicrobianos," *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, vol. 43, no. 1, 2017, Accessed: Mar. 30, 2021. [Online]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
- [4] Centers for Disease Control and, "Antibiotic resistance threats in the United States," *U.S. Dep. Heal. Hum. Serv.*, pp. 1–113, 2019, doi: 10.15620/cdc:82532.
- [5] C. Ghosh, P. Sarkar, R. Issa, and J. Haldar, "Alternatives to Conventional Antibiotics in the Era of Antimicrobial Resistance," *Trends in Microbiology*, vol. 27, no. 4, Trends Microbiol, pp. 323–338, Apr. 01, 2019, doi: 10.1016/j.tim.2018.12.010.
- [6] D. M. Lin, B. Koskella, and H. C. Lin, "Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance," *World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther.*, vol. 8, no. 3, p. 162, 2017, doi: 10.4292/wjgpt.v8.i3.162.
- [7] S. Museum, "Alternatives to Antibiotics," 2021. <https://www.sciencemuseum.org.uk/objects-and-stories/alternatives-antibiotics> (accessed May 21, 2022).
- [8] X. Li *et al.*, "A combination therapy of Phages and Antibiotics: Two is better than one," *Int. J. Biol. Sci.*, vol. 17, no. 13, p. 3573, 2021, doi: 10.7150/IJBS.60551.
- [9] J. S. Little *et al.*, "Bacteriophage treatment of disseminated cutaneous Mycobacterium chelonae infection," *Nat. Commun.* 2022 131, vol. 13, no. 1, pp. 1–7, May 2022, doi: 10.1038/s41467-022-29689-4.



Celia Inmaculada Atalaya Rey recibió el título de Biotecnología con profundización en Biomedicina por la Universidad de Cádiz en 2021. Actualmente se encuentra cursando el Máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide.

Membrana de glóbulos rojos como transportador de fármacos

Paula Gilabert Prieto

Resumen—Debido al avance de la nanotecnología y a la necesidad de la búsqueda de nuevas estrategias biomiméticas que permitan el transporte de fármacos hacia el lugar de interés o un mayor tiempo de circulación de estos en sangre surge como alternativa el uso de glóbulos rojos como transportadores de fármacos debido a todas las ventajas que presentan sirviendo por tanto esta herramienta tanto para tratar distintos tumores, enfermedades neurodegenerativas hasta infecciones bacterianas.

Palabras Claves— Fármaco, Glóbulo rojo, Membrana, Tumor.



1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha producido un crecimiento sin precedentes de la investigación y de las aplicaciones de la nanotecnología. Habiendo cada vez una mayor esperanza en la nanotecnología aplicada a la medicina, nanomedicina, tanto en el diagnóstico como en el tratamiento. [1].

La razón por la cual estas nanopartículas resultan tan atractivas para fines médicos es debido a sus importantes y únicas características, como su relación superficie - masa que es mucho mayor que otras partículas, la capacidad para adsorber y transportar otro compuesto. Entre estas posibles aplicaciones se incluye la administración de fármacos.

La administración de fármacos y el desarrollo farmacéutico relacionado en el contexto de la nanomedicina consiste en la formación de complejos a escala nanométrica formado por al menos dos componentes, uno de los cuales es el compuesto farmacéuticamente activo. El sistema en su totalidad condice a una función específica [2].

Estos sistemas de fármacos basados en nanopartículas, se están aplicando con éxito tanto de forma experimental como clínica para mejorar la eficacia de muchos fármacos y moléculas terapéuticas, en relación a la prevención o tratamiento de distintas enfermedades [1].

En comparación con los fármacos libres estos fármacos basados en nanopartículas se caracterizan por su baja toxicidad, buena estabilidad, excelente biocompatibilidad y una mayor eficacia de la liberación del fármaco, así como un mayor tiempo de retención en sangre, lo que es muy útil para las aplicaciones biomédicas [3].

Las moléculas terapéuticas por sí solas, normalmente son liberadas pronto o son capturadas por el sistema inmune, y la compensación mediante el aumento de dosis para solventar esto puede no ser una opción viable, ya que puede provocar efectos secundarios inesperados. La funcionalización con polietilenglicol (PEG) evita de forma eficaz la fagocitosis y el reconocimiento permitiendo un plazo de circulación mayor. El principio que sigue esta estrategia es que estos polímeros hidrofílicos ocultan las nanopartículas detrás de una capa para reducir su inmu-

nidad. El problema de esta alternativa está en la aparición de respuestas inmunitarias anti-PEG en algunos pacientes por lo que está siendo necesario la búsqueda de un nuevo campo de investigación. En la búsqueda de estas nuevas estrategias destaca la biomimética que utilizan características que imitan los componentes internos del cuerpo para lograr los efectos deseados [3]. Es por ello que a la hora de buscar y diseñar posibles materiales que funcionen como transportadores es importante tener en cuenta todas estas cuestiones, además de cómo se incorpora el fármaco y como se libera, la estabilidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad

Distintos tipos de membranas celulares existentes en la naturaleza han servido de inspiración para conseguir circulación de los fármacos a largo plazo o la focalización de estos en tumores. Estas membranas incluyen membranas cancerosas, bacterias, linfocitos, plaquetas, leucocitos y los comentados en este proyecto, eritrocitos.

2. ERITROCITOS COMO TRANSPORTADORES DE FÁRMACOS

2.1 Generalidades

Estos glóbulos rojos fueron descritos por primera vez en sangre humana en el siglo XVII por el científico Lee Van Hoc. Gracias a que estos pueden circular por la sangre hasta 120 días se han estudiado y utilizado como un vehículo ideal de diversos compuestos bioactivos. En la década de los 70 ya se comenzaron a utilizar los glóbulos rojos como transportadores para el tratamiento de la enfermedad de Caucheras. A partir de este primer estudio se han desarrollado muchas otras metodologías terapéuticas de sustitución de enzimas en los eritrocitos para tratar respectivamente infecciones bacterianas, leucemia y leucemia dependiente de asparagina. Más tarde en 2013 se propuso la definición de 'nanoesponja' [4] que consiste en una nanoesponja de toxina biomimética, que funciona como señuelo de toxina in vivo. Esta nanoesponja está compuesta por núcleos de nanopartículas poliméricas y rodeado de las membranas eritocitarias, pudiendo absorber toxinas dañinas para las membranas y transferirlas fuera de los objetivos de la célula. Siendo este uno de los

grandes avances en este campo de investigación. El uso de estos glóbulos rojos como transportadores es debido a una serie de ventajas que presentan estas células además de su capacidad de circular por la sangre escapando del sistema inmunitario como es que carecen de núcleo y de varios orgánulos lo cual es muy favorable para su extracción y purificación. Además, la sangre humana presenta 5.000 millones de glóbulos rojos por mililitro de medio, siendo estos las células más abundantes de la sangre humana. Por otro lado, al utilizarlos se evitaría algunas toxicidades intrínsecas que pueda presentar las nanopartículas. [3]

2.2. Algunas aplicaciones de los glóbulos rojos como transportadores

Debido a la inherente biocompatibilidad estos han sido estudiados para administración de distintos fármacos con distintos fines. Presentan diversas aplicaciones y diversas dianas, aunque el sistema de partida sea el mismo. Uno de los ejemplos es el uso de derivados de los glóbulos rojos para la administración de antígenos con inmunoterapia mejorada contra el cáncer. En este caso se presenta una combinación de vacuna contra el cáncer basada en la membrana del glóbulo rojo y el bloqueo de PD1.

Como bien es sabido y ha sido estudiado los glóbulos rojos senescentes o dañados son eliminados por células del sistema inmune como son los macrófagos y células dendríticas (CD) del bazo. En concreto el bazo es un órgano linfóide secundario en el que abundan distintos tipos celulares como los linfocitos B y T, las Natural Killer (NK) y células presentadoras de antígenos como las CD. Es decir que lo que se pretende en este acercamiento es aprovechar los glóbulos rojos dañados para transportar antígenos asociados a tumores a las células presentadoras de cancerígenas [1].

Otra alternativa y posible aplicación de estos transportadores es el uso de las membranas de los globulos rojos, no solo para terapia atumoral, si no para camuflar ciertas sustancias y actuar contra la infección bacteriana. La resistencia antibiotica esta suponiendo un gran reto a nivel mundial para la búsqueda de nuevas alternativas para combatir estas infecciones que ponene en riesgo la salud humana. Como se mencionó anteriormente estas membranas celulares de los glóbulos rojos son capaces de evadir el sistema inmune, por lo que la estrategia es la que se planta en la figura1: en rpimer lugar se encapsularia el fosfato de tedizolid (TR-701) que es un nuevo antibiótico aprobado para la infección bacteriana causada por gram-

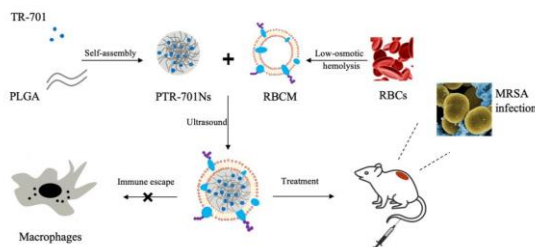


Fig. 1. Representación esquemática de la preparación y aplicación de las nanopartículas diseñadas

positivas en piel en nanopartículas de ácido poliláctico co-glicólico (PLGA) y posteriormene fusionado mediante ultrasonido esta contrucción con la membrana celular de los glóbulos rojos obtenida como se detallará en el siguiente apartado. [5]

Estos glóbulos rojos además pueden utilizarse como vehículos para conseguir de esta forma atravesar la barrera hematoencefálica pudiendo de esta forma tratar desde tumores cerebrales hasta enfermedades neurodegenerativas. [6]

3. SÍNTESIS DE TRANSPORTADORES A PARTIR DE GLÓBULOS ROJOS

Existen diversas tecnicas tanto basadas en propiedades químicas como en propiedades físicas utilizadas para la encapsulación del fármaco u otro compuesto activo dentro de los eritrocitos como son hemolisis hipotónica, osmosis, o perturbaciones químicas de la membrana entre otras.

En general, para la preparación de vesículas derivadas de la membrana celular de los globulos rojos es dividida en dos partes: la obtención de las vesículas derivadas de la membrana de los glóbulos rojos y a continuación la fusión de la vesícula con el compuesto que se vaya a utilizar.

Como se puede ver la figura 1 que se muestra la síntesis de forma sintetizada, en primer lugar, se obtendría la sangre del organismo, que a continuación es centrifugada, obteniendo los eritrocitos. Estos son lavados un par de veces para quedarnos simplemente con estas células eliminando las células no deseadas y el plasma. Y por último para obtener estos eritrocitos vacios se aplican una serie de tratamientos y hipotonicos y lavados para eliminar todos los componentes intracelulares, y una centrifugación para eliminar la hemoglobina. [3]

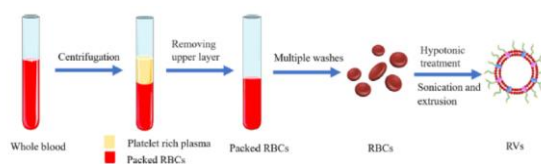


Fig. 2. Esquema de la preparación de las vesículas derivadas de las membranas de los glóbulos rojos

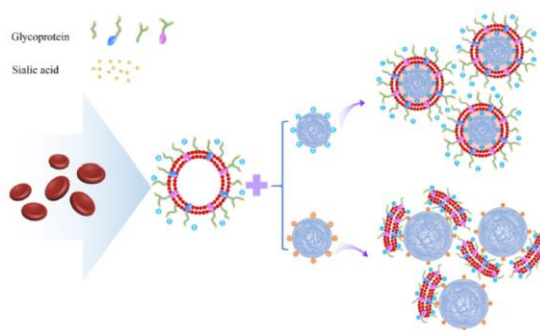


Fig. 3. Diagrama esquemático de las interacciones electrostáticas

Los glóbulos rojos son estructuras altamente flexibles con una membrana celular viscoelástica lo que les permite el paso a ciertos órganos y por capilares muy estrechos. Por lo que es importante mantener o recubrir el glóbulo rojo con una capa superficial para mantener la estabilidad de este y las características inmunológicas.

De esta forma las nanopartículas poliméricas con energías superficiales más altas tienen más probabilidad de interactuar con las membranas estabilizadas del polisacárido para de esta forma minimizar la energía total, mientras que la superficie estabiliza de las membranas de los glóbulos rojos puede impedir eficazmente otras interacciones de las membranas. La presencia de grupos negativos en el residuo terminal del polisacárido confiere una mayor asimetría a las membranas celulares lo que juega un papel importante en las interacciones superficiales. Las nanopartículas con carga negativa podrían formar núcleos con partículas distintas como son estas membranas, esto puede atribuirse a la repulsión, provocando que las nanopartículas se fusionen en las membranas intracelulares. Por otro lado, y de forma contraria las nanopartículas cargadas positivamente producen una fuerte afinidad formando simplemente agregados como se parecía en la figura 2.

5. CONCLUSIONES

Los avances en la nanotecnología y por ende en la nanomedicina han demostrado unas ventajas muy significativas tanto a nivel de eficacia como de seguridad de nuevas oportunidades en los sistemas de liberación de fármaco. Destacando las tres aplicaciones mostradas siendo los tres grandes retos a los que se enfrenta la investigación actualmente, desde poder tratar tumores, así como atravesar la barrera hematoencefálica, así como intentar buscar alternativas a uno de los grandes problemas a día de hoy como es la resistencia antibiótica.

El hecho de reproducir artificialmente interacciones biológicas es un desafío difícil, el hecho de potenciar esta alternativa que se comenzó a ir aplicando de la década de los 70 es un gran paso hacia tratamientos futuros no muy lejanos.

REFERENCIAS

- [1] X. Han *et al.*, "Red blood cell-derived nanoerythrocyte for antigen delivery with enhanced cancer immunotherapy," *Sci. Adv.*, vol. 5, no. 10, pp. 1-10, 2019.
- [2] W. H. De Jong and J. B. Paul, "Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 3, no. 2, pp. 133-149, 2008.
- [3] Q. Xia, Y. Zhang, Z. Li, X. Hou, and N. Feng, "Red blood cell membrane-camouflaged nanoparticles: a novel drug delivery system for antitumor application," *Acta Pharm. Sin. B*, vol. 9, no. 4, pp. 675-689, 2019.

- [4] C.-M. J. Hu, R. H. Fang, J. Copp, B. T. Luk, and L. Zhang, "A biomimetic nanosponge that absorbs pore-forming toxins," *Nat. Nanotechnol.*, vol. 8, no. 5, pp. 336-340, 2013.
- [5] X. Wu *et al.*, "Red blood cell membrane-camouflaged tetracycline phosphate-loaded PLGA nanoparticles for bacterial-infection therapy," *Pharmaceutics*, vol. 13, no. 1, pp. 1-17, 2021.
- [6] Y.-J. Li *et al.*, "From blood to brain: blood cell-based biomimetic drug delivery systems," *Drug Deliv.*, vol. 28, no. 1, pp. 1214-1225, Dec. 2021.



Paula Gilabert Prieto recibió el título de Grado de Biotecnología con mención en Biomedicina por la Universidad de Cádiz en 2021. Actualmente es estudiante del máster de Biotecnología sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide.

Fármacos epigenéticos para el tratamiento de enfermedades en humanos

Ana Cotán García

Resumen— La epigenética se define como el estudio de las modificaciones que son estables y heredables a corto plazo y que no implican cambios en la secuencia del ADN. Una desregulación en el patrón epigenético del material genético de una o varias células puede dar lugar al desarrollo de patologías. Es por ello por lo que se han desarrollado fármacos epigenéticos dirigidos contra las principales moléculas implicadas en los procesos epigenéticos. En esta revisión se describen los principales fármacos epigenéticos basados en inhibidores de las enzimas histona desacetilasas y metiltransferasas.

Palabras Claves— Epigenética, Fármaco, Cáncer, Enfermedad, Histona, Metilación.

1. INTRODUCCIÓN

La epigenética fue definida por Riggs, Holliday et al.,^[1] en 1996, como el estudio de los “cambios en la función de los genes, mitótica o meióticamente hereditarios, que no pueden explicarse por cambios en la secuencia de ADN”. Se trata pues del estudio de modificaciones, estables y heredables a corto plazo, que no implican una mutación en la cadena nucleotídica^[2]. Estas modificaciones se producen tanto en histonas como en el propio ADN, regulando la transcripción de los genes independientemente de la secuencia de nucleótidos^[3].

Existen diversos mecanismos subyacentes a la epigenética entre los que destacan la modificación de histonas, la metilación del ADN y el silenciamiento mediado por ARN^[4].

Las histonas acetiltransferasas (HAT) y las histonas desacetilasas (HDAC) son enzimas que regulan la expresión génica modificando el grado de compactación de la cromatina y, como consecuencia, su accesibilidad a la maquinaria transcripcional. Las HAT incorporan grupos acetilos a la región N-terminal de las histonas con lo que se produce la descompactación de la cromatina permitiendo la transcripción de los genes de esa región. Por el contrario, las HDAC producen el efecto contrario ya que eliminan los grupos acetilos compactando de ese modo la cromatina. La alteración de la función de estas enzimas se ha identificado en numerosas enfermedades humanas al activar o bien silenciar ciertos genes y cambiar su patrón de expresión...^[5].

La metilación en mamíferos se produce después de la replicación del ADN y es predominante en las islas CpG, regiones ricas en los nucleótidos citosina y guanina. Esta metilación se lleva a cabo mediante la acción de la enzima metiltransferasa (DNMT) y se ha visto que la función aberrante de la misma puede contribuir al desarrollo de patologías debido a que la metilación contribuye al silenciamiento génico impidiendo el reclutamiento de proteínas de unión al ADN^{[3][6]}.

Se ha visto que el ARN, mediante la vía TGS (silencia-

miento transcripcional de genes), envía señales al ADN que desembocan en una heterocromatinización que se puede propagar a través de las divisiones celulares, tanto mitóticas como meióticas, y que tiene como consecuencia el silenciamiento de ciertas regiones del ADN. Además, también se ha visto que el ARN podría tener un papel clave en las modificaciones de histonas y la metilación del ADN en sitios específicos, provocando un silenciamiento hereditario y estable^{[7][4]}.

Dado que los defectos en los mecanismos epigenéticos están muy relacionados con el desarrollo de patologías, en esta revisión se van a describir los principales fármacos epigenéticos identificados hasta la fecha.

2. INHIBIDORES DE LA HISTONA DESACETILASA

Las HDACs tienen un papel fundamental en la regulación de la transcripción, pues como se ha comentado anteriormente son enzimas que eliminan grupos acetilos de las histonas, haciendo que la cromatina se compacte. En muchas enfermedades como el cáncer, el Alzheimer, la colitis colorrectal o diversas lesiones renales, la HDAC se encuentra alterada modificando el patrón epigenético normal del organismo, lo que parece conducir a la aparición y desarrollo de las patologías^{[8][9][10][11]}.

Es por ello por lo que los inhibidores de la HDACs (HDACi) se han convertido en moléculas claves para el tratamiento de enfermedades ligadas a la función aberrante de la enzima.

En general, los HDACi pueden inhibir selectivamente a las HDAC y afectar a la transcripción a través de la inducción de la acetilación de histonas, factores de transcripción y otras proteínas reguladoras. Además, se ha visto que algunos son capaces de detener el crecimiento celular, la diferenciación, la apoptosis y la inhibición de la angiogénesis, lo que los hace candidatos potenciales para el tratamiento contra el cáncer^[12].

Actualmente, existen 5 inhibidores de la HDAC aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). Estos son Vorinostat, Romidepsina, Belinostat, Chidamida y Panobinostat (Tabla 1)^{[13][14]}.

TABLA 1
INHIBIDORES DE LA HDAC APROBADOS POR LA FDA ^[13]

Inhibidor de la HDAC	Nombre comercial	Fecha de aprobación	Indicación
Vorinostat	Zolinza	2006	Linfoma cutáneo de células T (CTCL)
Romidepsina	Istodax	2009 y 2011	CTLC y Linfoma periférico de células T (PTCL)
Belinostat	Beleodaq	2014	PTCL
Panobinostat	Farydak	2015	Mieloma múltiple
Chidamida	Epidaza	2015	PTCL

2.1. Vorinostat

El vorinostat, también conocido como SAHA (ácido hidroxámico suberoilánilida) fue aprobado por la FDA en 2006 para el tratamiento del linfoma cutáneo de células T (CTLC) en el que la enfermedad progresa, persiste o empeora después de dos tratamientos sistémicos ^[13].

Sin embargo, Wang, L. et al. ^[15], afirmó que el vorinostat elimina las células tumorales resistentes a medicamentos en pacientes con mieloma múltiple avanzado.

Además de ejercer su papel en la supresión de tumores, tiene efectos protectores sobre las células sanas, ya que se ha demostrado que el SAHA protege a las células sanas de la apoptosis inducida por el cisplatino, lo que demuestra el gran potencial de las terapias combinadas con inhibidores de las histonas desacetilasas ^[16].

A parte del tratamiento contra el cáncer, el este inhibidor ha demostrado tener capacidad como fármaco en el tratamiento de trastornos vasculares asociados con la diabetes, ya que Manea S, et al. han concluido en uno de sus estudios que la inhibición de HDAC mediada por SAHA disminuye el estrés oxidativo un modelo de ratón para la diabetes ^[17].

También se cree que el vorinostat es efectivo en la reducción de la latencia viral en el VIH. De hecho, existen análisis iniciales en los que se ha mostrado un aumento del ARN viral asociado a las células T CD4 o colaboradoras ^[18].

2.2. Romidepsina

La romidepsina, al igual que el vorinostat fue aprobada para el tratamiento contra el CTCL en 2009. Sin embargo, en 2011 también se aprobó para el linfoma periférico de células T (PTCL). Además, hay estudios que apoyan el uso del fármaco contra otros tipos de cáncer como la carcinogénesis hepatocelular en etapa temprana, neoplasias malignas hematológicas o neuroblastomas ^{[19] [20] [21]}.

En cuanto a otras enfermedades, Cleophas et al., ^[22] han concluido que la inhibición de HDAC1 y HDAC2 mediada por romidepsina podría ser una opción de tratamiento

con mucho potencial para la artritis gotosa o la gota aguda. Sin embargo, serían necesarios más estudios preliminares a fin de determinar su toxicidad antes de comenzar los estudios in vivo.

2.3. Belinostat

Este inhibidor de la HDAC fue aprobado en 2014 para la PTCL ^[13].

Actualmente, se ha visto que el belinostat es un agente atractivo para el tratamiento de otros tipos de cáncer. Kaczmarek, J. et al ^[23], han determinado que el belinostat, mediante administración intravítrea, fue eficaz en el tratamiento del retinoblastoma en un modelo de ratón y que además no generó toxicidad retiniana. Por otro lado, también se ha visto que es capaz de suprimir la proliferación y a la vez inducir la apoptosis mediante la regulación de la vía PKC también en modelo murino ^[24].

No solo ha sido efectivo contra diversos tipos de tumores, si no que además tiene potencial como fármaco dirigido a las enfermedades de la piel. La dermatitis atópica es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel que parece estar inducida por la pérdida de la expresión del miRNA 355, lo que genera un defecto en la barrera cutánea. Así, Quah et al., ^[25] en uno de sus estudios afirma que belinostat es capaz de restaurar el miRNA 355 de forma efectiva, restaurando la barrera cutánea.

2.4. Panobinostat

El panobinostat se aprobó por la FDA en 2015 para el tratamiento del mieloma múltiple, el segundo cáncer de sangre más común tras el linfoma no Hodgking. El inhibidor de la HDAC actualmente sigue siendo el único fármaco aprobado para el tratamiento de dicha enfermedad. Inhibe las HDAC clase I, II y IV lo que desemboca en la acetilación de numerosas dianas de proteínas intracelulares lo cual tiene un efecto anti-mieloma ^[26].

También tiene potencial en el tratamiento del cáncer de mama al ser capaz de inhibir el crecimiento tumoral y la metástasis regulando positivamente la expresión del gen supresor de tumores APCL ^[27].

2.4. Chidamida

La chidamida, fue aprobada por la FDA China en 2015. En este caso, está indicado para el tratamiento del PTCL, ya que ha demostrado tener efectos muy prometedores y un perfil de toxicidad muy favorable ^[28].

También se ha demostrado su efectividad en tumores sólidos como el cáncer de pulmón en combinación con la radioterapia. Esta terapia combinada en carcinomas de células escamosas de pulmón regula la expresión de miRNA 357 induciendo la apoptosis celular y suprimiendo el crecimiento tumoral ^[29].

Asimismo, tiene un efecto regulador sobre el miRNA-338-5p de la vía de señalización de Hedgehog, haciendo que aumente el estrés oxidativo y la tasa de apoptosis en células de glioma ^[30].

3. INHIBIDORES DE LA ENZIMA METILTRANSFERASA

Como se ha comentado anteriormente las enzimas metiltransferasas son enzimas que están involucradas en las modificaciones epigenéticas que suceden en el material genético de los diferentes organismos.

Al igual que sucede con las HDACs, la regulación aberrante de las DNMT se relaciona con la aparición de enfermedades de distinta naturaleza, sobre todo tumores, ya que provocan cambios conformacionales en la cromatina activando o reprimiendo la transcripción génica^[31]. Por esto mismo, los inhibidores de la DNMT (DNMTi) parecen ser herramientas claves en el desarrollo de nuevas terapias contra el cáncer.

Existen varios inhibidores de la DNMT en estudio y en ensayos clínicos debido a su potencial clínico.

Por ejemplo, se ha visto que la enzima metiltransferasa EZH2 está implicada en la regulación de la proliferación celular la apoptosis y la senescencia. Así inhibidores de la misma, como el tazemetostat, han demostrado tener efectos eficaces en linfoma no Hodgking de células B en ensayos clínicos fase II^[32]. Además, los inhibidores de EZH2 disminuyen la enfermedad de injerto contra huésped en un modelo murino tras un trasplante alogénico de medula ósea favoreciendo la diferenciación de las células T^[33].

Por otro lado, el Pinometostat un inhibidor de la DNMT DOT1L, demostró en un ensayo clínico tener potencial en el tratamiento de la leucemia aguda^[34].

Otro inhibidor de DNMT es la azacitidina también conocida como Vidaza por su nombre comercial. Fue aprobado por la FDA en 2004 para el tratamiento de síndromes mielodisplásicos como la anemia refractaria, anemia refractaria con sideroblastos en anillo, anemia refractaria con exceso de blastos o leucemia mielomonocítica crónica^[13]. El fármaco tiene actividad hipometilante por lo que ejerce su acción inhibiendo la metilación de los promotores de las islas CpG y silenciando la expresión de determinados genes que estarían implicados en la aparición y desarrollo de la enfermedad^[35].

4. CONCLUSIONES

Las evidencias demuestran la clara relación entre la aparición de determinadas enfermedades y la epigenética. Como consecuencia, las principales enzimas responsables de las modificaciones epigenéticas se han convertido en diana para muchos tratamientos. En concreto, se ha visto que los inhibidores de las enzimas histona desacetilasa y metiltransferasa como fármacos epigenéticos tienen un elevado potencial clínico y farmacológico.

A pesar de ello, la investigación sigue siendo necesaria ya que, aunque numerosos fármacos han sido aprobados y actualmente se comercializa, no están aun indicados contra todas las patologías contra las que pueden ser efectivos.

REFERENCIAS

- [1] Russo, V. E. A. et al. (1996) Epigenetic Mechanisms of Gene Regulation. Plainview, N.Y: Cold Spring Harbor Laboratory Press. Print.
- [2] Jaenisch, R., & Bird, A. (2003). Epigenetic regulation of gene expression: How the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature Genetics*, 33(3S), 245–254. <https://doi.org/10.1038/ng1089W.-K>.
- [3] Cheng, Y., He, C., Wang, M. et al. (2019). Targeting epigenetic regulators for cancer therapy: mechanisms and advances in clinical trials. *Sig Transduct Target Ther* 4(62). <https://doi.org/10.1038/s41392-019-0095-0>
- [4] Egger, G., Liang, G., Aparicio, A. et al. (2004). Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 429, 457–463. <https://doi.org/10.1038/nature02625>
- [5] Gatla, H. R., Muniraj, N., Thevkar, P., Yavvari, S., Sukhvasi, S., & Makena, M. R. (2019). Regulation of Chemokines and Cytokines by Histone Deacetylases and an Update on Histone Decetylase Inhibitors in Human Diseases. *International journal of molecular sciences*, 20(5), 1110. <https://doi.org/10.3390/ijms20051110>
- [6] Portela, A., Esteller, M. (2010). Epigenetics modifications and human disease. *Nat Biotechnol* 28, 1057–1068. <https://doi.org/10.1038/nbt.1685>
- [7] Allis, C., Jenuwein, T. (2016). The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nat Rev Genet* 17, 487–500. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.59>
- [8] Suraweera A, O'Byrne KJ and Richard DJ. (2018). Combination-Therapy with Histone Deacetylase Inhibitors (HDACi) for the Treatment of Cancer: Achieving the Full Therapeutic Potential of HDACi. *Front. Oncol.* 8(92). doi: 10.3389/fonc.2018.00092
- [9] Nativio, R., Donahue, G., Berson, A. et al. (2018). Dysregulation of the epigenetic landscape of normal aging in Alzheimer's disease. *Nat Neuroscience* 21, 497–505. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0101-9>
- [10] Lixing Zhou, Mingming Zhang et al. (2018). *Faecalibacterium prausnitzii* Produces Butyrate to Maintain Th17/Treg Balance and to Ameliorate Colorectal Colitis by Inhibiting Histone Deacetylase 1, *Inflammatory Bowel Diseases*, 24 (9), 1926–1940, <https://doi.org/10.1093/ibd/izy182>
- [11] Liu, J., Livingston, M.J., Dong, G. et al. (2018). Histone deacetylase inhibitors protect against cisplatin-induced acute kidney injury by activating autophagy in proximal tubular cells. *Cell Death Dis*, 322 (9). <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0374-7>
- [12] Xu, W., Parmigiani, R. & Marks, P. (2007). Inhibidores de histona desacetilasa: mecanismos moleculares de acción. *Oncogen* 26, 5541–5552. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210620>
- [13] Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Retrieved June 1, 2022, from <https://www.fda.gov/ph/>
- [14] Bondarev AD, Attwood MM, Jonsson J, Chubarev VN, Tarasov VV, Schiöth HB. (2021) Recent developments of HDAC inhibitors: Emerging indications and novel molecules. *Br J Clin Pharmacol*, 87(12):4577–4597. <https://doi.org/10.1111/bcp.14889>BONDAREVY AL4597
- [15] Liqin Wang, Rodrigo Leite de Oliveira et al. (2018). An Acquired Vulnerability of Drug-Resistant Melanoma with Therapeutic Potential, *Cell*, 173(6). 1413-1425.e14, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.04.012>.
- [16] Liu, J., Livingston, M.J., Dong, G. et al. (2018). Histone deacetylase inhibitors protect against cisplatin-induced acute kidney injury by activating autophagy in proximal tubular cells. *Cell*

- Death Dis (322). <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0374-7>
- [17] Simona-Adriana Manea, Mihaela-Loredana Antonescu, Ioana Madalina Fenyo, Monica Raicu, Maya Simionescu, Adrian Manea. (2018). Epigenetic regulation of vascular NADPH oxidase expression and reactive oxygen species production by histone deacetylase-dependent mechanisms in experimental diabetes, *Redox Biology*, 16, 332-343, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.03.011>.
- [18] Stephen J Kent, Jeanette C Reece, Janka Petracic, Alexey Martyushev, Marit Kramski, et al. (2013) The search for an HIV cure: tackling latent infection, *The Lancet Infectious Diseases*, 13 (7) 614-621, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70043-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70043-4).
- [19] Afaloniat H, Angelopoulou K, Giakoustidis A et al (2020). HDAC1/2 Inhibitor Romidepsin Suppresses DEN-Induced Hepatocellular Carcinogenesis in Mice. *Onco Targets Ther.* 15(13), 5575-5588. doi: 10.2147/OTT.S250233.
- [20] Nitin Jain & Olatoyosi Odenike (2010) Emerging role of the histone deacetylase inhibitor romidepsin in hematologic malignancies, *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 11(18), 3073-3084, DOI: 10.1517/14656566.2010.534779
- [21] Hegarty SV, Togher KL, O'Leary E, Solger F, Sullivan AM, O'Keefe GW. (2017). Romidepsin induces caspase-dependent cell death in human neuroblastoma cells. *Neurosci Lett.* 13(653), 12-18. doi: 10.1016/j.neulet.2017.05.025
- [22] Cleophas, M.C.P., Crişan, T.O., Klück, V. et al. (2019). Romidepsin suppresses monosodium urate crystal-induced cytokine production through upregulation of suppressor of cytokine signaling 1 expression. *Arthritis Res Ther* 21 (50). <https://doi.org/10.1186/s13075-019-1834-x>
- [23] Kaczmarek JV, Bogan CM, Pierce JM, Tao YK, Chen SC, Liu Q, Liu X, Boyd KL, Calcutt MW, Bridges TM, Lindsley CW et al. (2021). HDAC Inhibitor Belinostat Effectively Eradicates Vitreous Seeds Without Retinal Toxicity In Vivo in a Rabbit Retinoblastoma Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 62(14), 8. doi: 10.1167/iovs.62.14.8.
- [24] Lu P, Gu Y, Li L, Wang F, Yang X, Yang Y. (2019) Belinostat suppresses cell proliferation by inactivating Wnt/ β -catenin pathway and promotes apoptosis through regulating PKC pathway in breast cancer. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 47(1), 3955-3960. doi: 10.1080/21691401.2019.1671855.
- [25] Quah S, Subramanian G, Sampath P. (2021). Repurposing Belinostat for Alleviation of Atopic Dermatitis. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 11(3) 655-660. doi: 10.1007/s13555-021-00527-7.
- [26] Jesus G. Berdeja, Jacob P. Laubach, Joshua Richter, Steve Stricker, Andrew Spencer, Paul G. Richardson, Ajai Chari. (2021). Panobinostat From Bench to Bedside: Rethinking the Treatment Paradigm for Multiple Myeloma, Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia, 21(11), 752-765, <https://doi.org/10.1016/j.clml.2021.06.020>.
- [27] Qin G, Li Y, Xu X, Wang X, Zhang K, Tang Y, Qiu H, Shi D, Zhang C, Long Q, Lee K, Zhai Q, Wang S, Chen M, Deng W. Panobinostat (LBH589) inhibits Wnt/ β -catenin signaling pathway via up-regulating APCL expression in breast cancer. *Cell Signal.* 2019 Jul;59:62-75. doi: 10.1016/j.cellsig.2019.03.014. Epub 2019 Mar 14. PMID: 30880222.
- [28] Chan, T. S., Tse, E., & Kwong, Y. L. (2017). Chidamide in the treatment of peripheral T-cell lymphoma. *OncoTargets and therapy*, 10, 347-352. <https://doi.org/10.2147/OTT.S93528>
- [29] Huang, X., Bi, N., Wang, J., Ren, H., Pan, D., Lu, X. y Wang, L. (2021). Chidamide and Radiotherapy Synergistically Induce Cell Apoptosis and Suppress Tumor Growth and Cancer Stemness by Regulating the MiR-375-EIF4G3 Axis in Lung Squamous Cell Carcinomascarcinomas de células escamosas de pulmón. *Revista de oncología*, 2021, 4936207. <https://doi.org/10.1155/2021/4936207>
- [30] Zhou, H., Han, L., Wang, H., Wei, J., Guo, Z., & Li, Z. (2020). Chidamide Inhibits Glioma Cells by Increasing Oxidative Stress via the miRNA-338-5p Regulation of Hedgehog Signaling. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 7126976. <https://doi.org/10.1155/2020/7126976>
- [31] Copeland RA (2018). Protein methyltransferase inhibitors as precision cancer therapeutics: a decade of discovery, 373 (1748), 20170080. <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0080>
- [32] Italiano A, Soria JC, Toulmonde M, Michot JM, Lucchesi C, Varga A, Coindre JM, Blakemore SJ et al. (2018) Tazemetostat, an EZH2 inhibitor, in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma and advanced solid tumours: a first-in-human, open-label, phase 1 study. *Lancet.* 19(5), 649-659. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30145-1.
- [33] Jones, PA, Ohtani, H., Chakravarthy, A. et al. (2019). Terapia epigenética en inmuno-oncología. *Nat Rev Cancer* 19, 151-161 <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0109-9>
- [34] Stein, EM, Garcia-Manero, G., Rizzieri, DA, Tibes, R., Berdeja, JG, Savona, MR, Jongen-Lavrenic, M., Altman, JK, et al. (2018). The DOT1L inhibitor pinometostat reduces H3K79 methylation and has modest clinical activity in adult acute leukemia. *Blood*, 131 (24), 2661-2669. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-12-818948>
- [35] Santini V. Azacitidine: activity and efficacy as an epigenetic treatment of myelodysplastic syndromes. (2009). *Expert Rev Hematol.* 2(2), 121-7. doi: 10.1586/ehm.09.6.



Ana Cotán García, recibió el título de Biotecnología por la Universidad de Cádiz en 2021. Actualmente es alumna del Máster en Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo de Olavide. Su interés investigador incluye el desarrollo de fármacos y la genómica y la metabolómica. Asimismo, trabaja como personal investigador en el departamento de Química Orgánica de la Universidad de Cádiz en el estudio del metabolismo secundario de hongos fitopatógenos.

Inteligencia Artificial en el ámbito de la Computación Cuántica

Francesc Rodríguez Díaz

Resumen— La inteligencia artificial en el ámbito de la computación cuántica es una nueva rama de conocimiento cuyo objetivo es obtener resultados inimaginables con tecnologías informáticas clásicas con la ayuda del procesamiento de la computación cuántica.

Palabras Claves— Inteligencia Artificial, Computación Cuántica, Algoritmos, Superposición, Entrelazamiento.

1. INTRODUCCIÓN

La inteligencia artificial cuántica, todavía se encuentra en dominios de investigación, pues actualmente la computación cuántica es un campo que no se ha desarrollado con total plenitud.

A continuación, se hará una breve introducción sobre los conceptos de la Inteligencia Artificial y de la Computación Cuántica para tener una mayor noción de los temas.

La inteligencia artificial (IA) es una rama de la Ciencia de Datos, que se concentra principalmente en la creación de programas y mecanismos que pueden manifestar comportamientos "Inteligentes". Una de las principales ramas de la inteligencia artificial es la minería de datos, que se encarga principalmente de procesos de extracción, transformación y cargar de datos (ETL), y aprendizaje automático.

La computación cuántica es un terreno totalmente distinto de la informática y computación clásica, que se basa en el uso de los qubits. Los qubits son bits que gracias a la superposición cuántica pueden tener un valor de 0 o 1 al mismo tiempo. Esto permite llevar a cabo varias operaciones a la vez.

2. INTELIGENCIA ARTIFICIAL CUÁNTICA

2.1. Ventajas cuánticas

La computación cuántica aporta diversas ventajas a la inteligencia artificial. Una de estas ventajas es la generación de números verdaderamente aleatorios a través de puertas lógicas cuánticas Hadamard sobre una cadena de N qubits, que no son capaces de generarse con un equipo clásico.

Otra ventaja son los beneficios que aporta al proceso de optimización, algunos de los métodos que se benefician de estas ventajas son el método de Monte Carlo, el paseo aleatorio o el recocido simulado.

Una última ventaja, es que la versión cuántica de ciertos algoritmos clásicos han demostrado ser más rápido, pudiendo así resolver problemas más complejos.

2.2. Métodos híbridos

Los métodos híbridos [1] son aquellos que mezclan los métodos clásicos con los cuánticos. Una de las razones de estos métodos es porque en ocasiones, cuando generamos datos con un procesador cuántico, estos pueden llegar a no tener sentido. Para arreglar este problema surgen los métodos híbridos que utilizan fuentes de procesamiento rápido de datos, como la CPU o la GPU.

A partir de esto, se han ido desarrollando algoritmos híbridos para extraer un mayor rendimiento y potencial. Algunos de estos algoritmos son: el algoritmo de optimización aproximada cuántica (QAOA) que se utiliza para resolver problema en la teoría de grafos. Este algoritmo hace uso de la optimización clásica de operaciones cuánticas para maximizar la función objetivo.

Otro algoritmo híbrido es el algoritmo Eigensolver cuántico variacional (VQE), el cual aplica la optimización clásica para encontrar la energía del estado fundamental de una molécula. Este algoritmo también se puede ampliar para encontrar energías excitadas de moléculas.

3. ALGORITMOS

En esta sección del artículo vamos a tratar algunos de los algoritmos utilizados en la Inteligencia Artificial Cuántica. Entre ellos veremos el algoritmo de Grover [2], el algoritmo evolutivo con inspiración cuántica [3], y el algoritmo del paseo cuántico [4].

3.1. Algoritmo de Grover

El algoritmo de Grover [2] es uno de los algoritmos más básicos en este campo. El algoritmo explota al máximo el concepto de superposición, para poder realizar una búsqueda sobre un conjunto N de datos no estructurados.

Cualquier problema de búsqueda se puede expresar como una función $f(x)$, donde x es un elemento del conjunto a

buscar. Si el elemento x es una solución, entonces tendremos que $f(x) = 1$, mientras que si x no es una solución $f(x) = 0$. De forma clásica, en el peor de los casos tendríamos que calcular $f(x)$ un total de $N - 1$ veces, donde $N = 2^n$. De esta manera estaríamos probando todas las posibilidades, mientras que, con el algoritmo de Grover "resolveríamos este problema con una velocidad cuadrática, pues solamente tendríamos que calcular \sqrt{N} , en comparación con N .

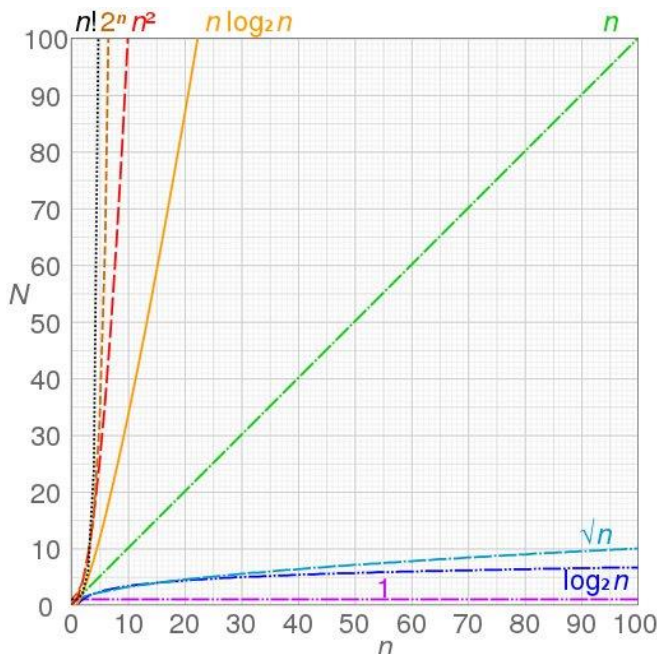


Fig.1. Gráfica de complejidades

Para poder obtener dicha velocidad, lo que hace el algoritmo es definir una matriz llamada oráculo teniendo en cuenta que esta debe actuar sobre todos los estados $|x\rangle$, la matriz está definida de la siguiente manera:

$$U_f |x\rangle = (-1)^{f(x)} |x\rangle \tag{1}$$

Lo que quiere decir la función es que, si x no es una solución, está no tendrá efecto sobre el estado, pero en el caso de que si sea una solución entonces tendremos lo siguiente:

$$U_f |x\rangle = -|x\rangle \tag{2}$$

Con esto, la matriz corresponde a hacer una reflexión en su amplitud al estado marcado dentro del conjunto de N elementos, es decir, que lo que conseguimos con la función es resaltar un estado sobre los demás, modificando la amplitud de dicho estado. Gracias a esto, la amplitud del resto de estados baja y a la hora de la medición devolverá el elemento correcto con una probabilidad casi del 100%.

3.2. Algoritmo evolutivo con inspiración cuántica

El algoritmo evolutivo con inspiración cuántica [3] o dicho de una manera más breve, los algoritmos genéticos cuánticos son esencialmente como los algoritmos genéticos clásicos, con la diferencia de que cada individuo es una cadena de cubits, a estas cadenas las vamos a llamar individuos cuánticos.

Como cada individuo cuántico se encuentra en un estado de superposición cuántica, cuando mutamos o cruzamos individuos lo que estamos haciendo en realidad es cruzar o mutar varios individuos clásicos.

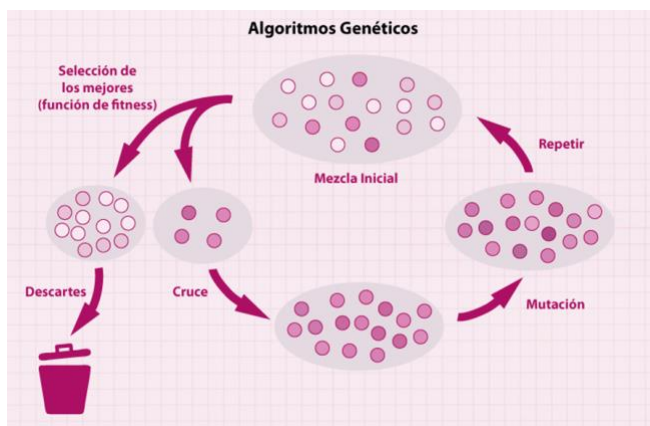


Fig.2. Pasos del algoritmo genético clásico

El proceso de los algoritmos genéticos cuánticos es muy similar al del algoritmo genético clásico. Los pasos son crear una población inicial de individuos cuánticos (población cuántica), que iremos cruzando y mutando durante X generaciones (iteraciones). La actualización de la población se realiza mediante el operador Q -gate, dicho operador se define como una matriz de rotación:

$$U(\Delta\theta_i) = \begin{bmatrix} \cos(\Delta\theta_i) & -\sin(\Delta\theta_i) \\ \sin(\Delta\theta_i) & \cos(\Delta\theta_i) \end{bmatrix} \tag{3}$$

La actualización de cada individuo cuántico sigue la siguiente ecuación:

$$\begin{bmatrix} \alpha'_i \\ \beta'_i \end{bmatrix} = U(\Delta\theta_i) \begin{bmatrix} \alpha_i \\ \beta_i \end{bmatrix} \tag{4}$$

La ecuación nos indicia que la actualización del individuo es el resultado de aplicarle el operador Q -gate al individuo actual. Con esto conseguimos llevar a los individuos a soluciones más óptimas.

Gracias a este operador, podemos explorar mejor el espacio de soluciones y evitar quedarnos estancados en máximos o mínimos locales, como puede pasar al usar algoritmos genéticos clásicos.

3.3. Algoritmo del paseo cuántico

El algoritmo del paseo cuántico [4] es la versión cuántica del algoritmo del paseo aleatorio. El paseo aleatorio consiste en describir una ruta definida por una serie de pasos aleatorios, en donde el estado del caminante está descrito por una distribución de probabilidades de posiciones. La diferencia entre el paseo cuántico y el aleatorio, es que el cuántico busca una mejora en la eficiencia y el rendimiento en los algoritmos aleatorios. El paseo cuántico es la base de algunos algoritmos cuánticos como el algoritmo de Grover.

Al igual que en el paseo aleatorio, el paseo cuántico también tiene dos tipos. El primero de ellos es el paseo cuántico en tiempo continuo, el cual puede llegar a utilizarse para computación cuántica universal. Los caminantes en tiempo continuo están descritos por la evolución de un Hamiltoniano H , que se encuentra descrito por la ecuación de Bose-Hubbard:

$$H = \sum_m E_m a_m^\dagger a_m + \frac{\Gamma}{2} \sum_m n_m (n_m - 1) + \sum_{\langle l,m \rangle} J_{l,m} a_l^\dagger a_m \quad (5)$$

siendo a_m^\dagger y a_m operadores de creación y aniquilación, Γ la energía de interacción, es decir, la energía que cuesta que dos partículas estén en la misma posición, E_m la energía en una posición concreta, $J_{l,m}$ la tasa de tunelado y n_m un operador numérico. Los caminantes avanzarán de acuerdo con el siguiente operador unitario:

$$U = e^{-iHt/\hbar} \quad (6)$$

Y el segundo es el paseo cuántico en tiempo discreto, en donde participan el caminante y una moneda. La evolución de este tipo de caminata depende de un operador de evolución que lleva a cabo dos operaciones cuánticas. La primera operación consiste en hacer que la moneda entre en un estado de superposición cuántica, mientras que la segunda operación consiste en hacer que la moneda interactúe con el caminante. La fórmula que describe el camino de un paseo cuántico discreto es la siguiente:

$$|\Psi\rangle_n = U^{\otimes n} |\Psi\rangle_0 \quad (7)$$

Siendo $U^{\otimes n}$ n aplicaciones del operador de evolución U , $|\Psi\rangle_0$ el estado inicial de la moneda y $|\Psi\rangle_n$ el estado de la caminata después de n pasos.

4. APRENDIZAJE AUTOMÁTICO CUÁNTICO

El aprendizaje automático cuántico [5] es la versión cuántica del aprendizaje automático clásico. Esta área de investigación intenta integrar los algoritmos cuánticos dentro del aprendizaje automático, con lo que se consigue acelerar las técnicas clásicas, la velocidad de cálculo y el almacenamiento de datos del aprendizaje automático.

Además de esto último, esta área también utiliza datos generados a partir de experimentos cuánticos en métodos clásicos del aprendizaje automático, esto recibe el nombre de "Aprendizaje automático de sistemas cuánticos".

Los algoritmos de aprendizaje automático cuántico están basados en el algoritmo de Grover, pues como se comentó anteriormente este algoritmo es capaz de resolver problemas de búsqueda en datos no estructurados, con una aceleración cuadrática. Algunos de estos algoritmos son: el algoritmo de las K -medias y los K -vecinos más cercanos.

Las ramas del aprendizaje automático clásico son el aprendizaje supervisado, el aprendizaje no supervisado y el aprendizaje por refuerzo. A continuación, se explicarán las versiones cuánticas de estas tres ramas.

4.1. Aprendizaje supervisado cuántico

El aprendizaje supervisado clásico, intenta estimar el valor de la variable de salida en función del resto de variables. Dos algoritmos cuánticos [7][8] que se intenta integrar en este tipo de aprendizaje automático son el algoritmo de máquinas de soporte vectorial cuánticas y el algoritmo de redes neuronales cuánticas.

El algoritmo de máquinas de soporte vectorial cuánticas tiene como finalidad construir un hiper-plano que separe el conjunto de datos dedicados a las tareas de clasificación y la ecuación lineal para la formulación dual. Para ello, se construye una matriz de densidad que se corresponde con la matriz del núcleo, y para la extracción de la información se utiliza el análisis de componentes principales cuántico.

Las redes neuronales cuánticas tienen un problema con las redes neuronales clásicas. El problema reside en que las redes neuronales clásicas funcionan por funciones de activación que generalmente no suelen ser lineales, ya que se ha demostrado que suelen ser más rápidas en la optimización de los parámetros de las neuronas. Mientras, que las redes neuronales cuánticas son todo lo contrario, pues en estas funcionan mejor las lineales. Para arreglar este problema se utilizan los métodos RUS (repeat until success), que simulan funciones no lineales. El problema con estos métodos es que ciertos estados no pueden ser observados y se generan oscilaciones específicas.

Algunas de las maneras más usuales para implementar redes neuronales cuánticas son empleando fotones, circuitos variacionales en capas o con modelo cuánticos del tipo Ising.

4.2. Aprendizaje no supervisado cuántico

El aprendizaje no supervisado clásico, se encarga de aquellos problemas donde no existe una variable especial de interés. Un par de algoritmos cuánticos [7][8] que se integran en esta rama del aprendizaje supervisado son el algoritmo cuántico de agrupamiento y los métodos K-nn.

Los dos algoritmos nombrados anteriormente, son algoritmos de distancia, cuya función es calcular la distancia entre los vectores de características y la selección más próxima. La implementación de estos dos algoritmos consiste en emplear la superposición de dos funciones de onda, para utilizarlas como media de la distancia entre los dos estados cuánticos,

4.3. Aprendizaje por refuerzo cuántico

Con la mejora cuántica, el aprendizaje por refuerzo tiene un agente cuántico que interactúa con marcos clásicos o cuánticos y en determinadas ocasiones, este agente recibe una recompensa. Esta recompensa ocasiona en el agente un cambio en su comportamiento, es decir, que el agente intenta aprender qué acciones provocan que reciba una recompensa.

En algunas ocasiones, ya sea por la capacidad de procesamiento cuántico del agente o por la posibilidad de sondear el marco en superposiciones, se puede llegar a conseguir una aceleración cuántica.

5. CONCLUSIONES

La inteligencia artificial cuántica es un área de investigación que todavía le queda mucho por descubrir e implementar, pues la mayoría de los algoritmos son marcos teóricos y muy pocos están implementados. Habrá que esperar a que la mayoría de estos estén totalmente implementados y ver los beneficios que podrán aportar en otros campos de investigación como en la biología.

REFERENCIAS

- [1] *In-Depth Guide to Quantum Artificial Intelligence in 2022*
<https://research.aimultiple.com/quantum-ai/>
- [2] Computación cuántica: Implementación de algoritmos de Shor y Grover en el computador cuántico de IBM
<https://repositorio.escuelaing.edu.co/bitstream/handle/001/774/Vega%20Fern%20E1ndez.%20Cesar%20Augusto%20-%202017.pdf;jsessionid=38406966317D9071AB7569D245F399E6?sequence=2>
- [3] Aprendizaje de Redes Neuronales Artificiales Basado en Algoritmos Evolutivos de Inspiración Cuántica
http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3192/1453_2018_chaparro_cruz-in_fain_informatica.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- [4] Caminatas cuánticas: definiciones y algoritmos
<https://www.fis.cinvestav.mx/~orosas/REVCINV/p64.pdf>
- [5] An introduction to quantum machine learning, Contemporary Physics
<https://arxiv.org/abs/1409.3097>

- [6] Reinforcement learning using quantum Boltzmann machines
<https://arxiv.org/abs/1612.05695>
- [7] Quantum algorithms for supervised and unsupervised machine learning
<https://arxiv.org/abs/1307.0411>
- [8] Quantum algorithms for Nearest-Neighbor methods for supervised and unsupervised learning
<https://arxiv.org/abs/1401.2142>



Francesc Rodríguez Díaz Estudiante de segundo curso del grado de Ingeniería informática en sistemas de información en la universidad Pablo de Olavide (Sevilla).

Control de Calidad y Pruebas Software

Carlos Bedmar Moreno

Resumen— El Control de Calidad o Quality Assurance (QA) se hace cada día más imprescindible en el modelo de desarrollo de cualquier aplicación software. A través de la localización y corrección de errores en todas las fases del proyecto consiguen un ahorro considerable de gastos, la mejora de la imagen del software y aseguran el cumplimiento de unos estándares mínimos para ofrecer al cliente un producto de calidad.

Palabras Claves— Quality Assurance, Testing, Desarrollo software, Control de calidad, Pruebas.

1. INTRODUCCIÓN

La fase de pruebas de un producto se ha convertido en uno de los aspectos más importantes de todo negocio, no solo en el mundo del software, todo producto que pasa por nuestras manos hoy en día debe pasar por diversas y meticulosas pruebas que garanticen un mínimo de calidad antes de pasar a la venta.

El origen de esta necesidad proviene puramente del ámbito económico, que el cliente encuentre fallos en su producto puede llevar a una pérdida de confianza en la empresa y mala imagen pública, lo que finalmente se traduce en pérdidas que pueden conducir al cierre de la empresa. Hasta llegar a la era actual de metodologías de pruebas software se pueden diferenciar 5 etapas:

- Periodo de debugging [1947–1956]: Grace Murray acuña los términos “bug” y “debugging” tras un incidente en el que una polilla se había quedado pegada en un relé de la computadora con la que trabajaba, provocando que esta no hiciese contacto. Pruebas orientadas a la corrección del código fuente para su correcto funcionamiento.
- Periodo de demostración [1957–1978]: Charles Baker expone la necesidad del desarrollo de pruebas que garanticen que se cumplen los requisitos prediseñados (testing) además de las funcionalidades del programa (debugging). Comienzan las pruebas que garantizan que se cumplen las especificaciones descritas.
- Periodo de destrucción [1979–1982]: Glenford J. Myers introduce un cambio radical en la lógica de procedimientos del testing. Antes la intención era demostrar que un programa no tiene fallos, lo que podría conducirnos de forma subconsciente a tomar datos que no provoquen fallos. A partir de este momento se intentará demostrar que sí los tiene utilizando datos de entrada con alta probabilidad de provocar fallos.
- Periodo de evaluación [1983–1987]: Se publica por primera vez una guía de testing que incluye actividades de análisis, revisión y pruebas durante el ciclo de vida del software. Aparecen por primera vez herramientas para el desarrollo de pruebas automatizadas y desde este momento el testing

se considera una fase más del desarrollo software.

- Periodo de prevención (1988–Actualidad): Aparecen por primera vez los estándares de calidad, se consigue que el testing cobre mayor importancia hasta tal punto que surge el perfil de tester, diferenciado del desarrollador, y se añade una fase de testing al periodo más temprano del desarrollo software, la etapa de planificación.

2. IMPORTANCIA DE LAS PRUEBAS SOFTWARE

Las pruebas de software son un conjunto de técnicas y procesos con los que se pretende probar un sistema o aplicación en diferentes momentos de su desarrollo para comprobar su correcto funcionamiento.

2.1. ¿Por qué son importantes las pruebas?

Su importancia radica en localizar y subsanar el mayor número de deficiencias de software lo antes posible, por ello la realización de pruebas frecuentemente y llevar a cabo un testing de calidad es vital en el proceso de desarrollo software.

2.2. ¿Por qué son necesarias las pruebas?

La implementación de pruebas software mejora la calidad, reduce el riesgo de producir errores y mejora en gran medida la satisfacción de requisitos.

Los errores se vuelven mas costosos de solucionar a medida que avanzan en el ciclo de vida del desarrollo software sin ser detectados, es mejor corregir los errores en ciclos de desarrollo tempranos. Se estima que por cada fase de desarrollo donde no se ha detectado un error, el coste de solucionarlo aumenta 10 veces por fase.

3. TIPOS DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Principalmente existen dos enfoques en el aseguramiento de calidad: Constructivo o analítico.

- Constructivo: Focalizados en prevenir o evitar defectos. Utilizan procedimientos técnicos (métodos, herramientas, lenguajes, plantillas, entornos de desarrollo especializados) y organizativos (guías, estándares, reglas de proceso y normas,

requisitos legales).

- Analíticos: Orientados a la utilización de pruebas estáticas (revisiones, análisis del flujo de control, métricas del compilador, análisis del flujo de datos) y dinámicas (pruebas de caja negra, caja blanca y técnicas basadas en la experiencia).

4. PRUEBAS. PROCEDIMIENTO Y TIPOS.

4.1. Proceso de pruebas en el transcurso del desarrollo software

Para llevar a cabo un buen proceso de pruebas debe de seguir ciertas etapas, cada una tiene lugar de forma concurrente con las fases del proceso de desarrollo y, además, entre ellas se aplican métodos de superposición y vuelta atrás: Planificación de pruebas, Análisis y Diseño de pruebas, Implementación y Ejecución de pruebas, Evaluación del criterio de salida y Generación de informes, y por último las Actividades de cierre de pruebas.

4.1. Tipos de pruebas software

Las pruebas software se dividen principalmente en dos bloques, funcionales y no funcionales.

Funcionales:

- Pruebas unitarias: Evalúan cada componente de forma aislada, individual e independiente.
- Pruebas de integración: Detectan defectos en interfaces y comprueban la correcta integración entre componentes.
- Pruebas de sistema: Comprueban que la funcionalidad implementada presenta las características requeridas.
- Pruebas de aceptación: Revisan que el software satisface los requisitos del cliente.

No funcionales:

- Pruebas de rendimiento: Evalúan el desempeño o velocidad de la aplicación bajo una carga de trabajo específica.
- Pruebas de carga: Analizan el comportamiento del software bajo una gran carga de trabajo.
- Pruebas de seguridad: Revisan si el sistema está seguro en caso de ataques tanto de origen externo como interno.
- Pruebas de compatibilidad: Comprueban si la aplicación es compatible con entornos cambiantes.
- Pruebas de confiabilidad: Revisan el desempeño de una aplicación en una tarea específica dentro de un periodo de tiempo determinado.
- Prueba de usabilidad: Examinan la facilidad de uso por parte del usuario final en términos de aprendizaje y operatividad.

Adicionalmente las pruebas pueden ser ejecutadas de forma manual o de forma automatizada.

5. RELACIÓN DEL QA TESTER CON EL EQUIPO DE DESARROLLO

El equipo de QA se sitúa entre el cliente y el equipo de desarrollo. Por la parte del cliente aporta una mejor comprensión de las necesidades, define los criterios de aceptación, mejora el entendimiento del dominio de negocio e identifica requerimientos no funcionales. Por la parte del equipo de desarrolladores, el equipo de QA define las estrategias de prueba, apoya en la automatización de pruebas funcionales, detecta y notifica bugs y sugiere mejoras funcionales y de usabilidad.

6. CONCLUSIONES

Aunque un equipo de desarrollo puede llegar a aportar cierto nivel de calidad y corrección de errores a nuestro proyecto, cuanto más grande es el proyecto más evidente se hace la necesidad de un equipo de aseguramiento de calidad especializado, esto nos proporcionará mayores beneficios a corto y largo plazo en todos los ámbitos, desde reducción de costes hasta mejora de características funcionales y no funcionales. En la mayoría de los casos el cliente tendrá poca idea de desarrollo de software y dudosamente le importará de qué forma se haya desarrollado, sin embargo, es obvio que si detecta que existen errores o que la calidad del producto final es baja, el cliente no quedará satisfecho. Teniendo un equipo especializado en que esto no ocurra mejorará la relación con el cliente, que probablemente vuelva a acudir al mismo equipo para futuros proyectos. Por otra parte, se hace visible también que un proyecto cuyos inicios han estado bajo revisión de un equipo de QA, tendrá un mantenimiento más sencillo a largo plazo que uno que no.

REFERENCIAS

- [1] Apriorit, "Dependency Impact Analysis in Software Testing and Development." <https://www.apriorit.com/qa-blog/252-impact-analysis>
- [2] Guru99, "What is Quality Assurance?" <https://www.guru99.com/all-about-quality-assurance.html>
- [3] Raygun, "How much could software errors be costing your company?" <https://raygun.com/blog/cost-of-software-errors/>
- [4] IWantic, "¿Qué es un QA Tester?" <https://iwantic.com/que-es-un-qa-tester>
- [5] Medium, "Historia de las pruebas software" <https://medium.com/la-region-vulnerable/historia-de-las-pruebas-de-software-fbd3c2716ce2>
- [6] QALovers, "Fases en la historia del testing" <https://www.qalovers.com/2021/02/historia-testing.html>
- [7] Syntonize, "Qué implica un buen proceso de QA Testing" <https://www.syntonize.com/proceso-de-qa-testing/>



Carlos Bedmar Moreno es Técnico superior en Administración de Sistemas Informáticos en Red. Actualmente es estudiante de segundo curso del grado en Ingeniería Informática en Sistemas de Información en la Universidad Pablo de Olavide.

Introducción a los sistemas ERP

Antonio José Guerrero Aguilar

Los sistemas ERP (Enterprise Resource Planning) son aplicaciones informáticas integradas útiles para gestionar los procesos de negocio de una compañía, un concepto importante es que en un sistema ERP debemos de garantizar la inserción de un dato una única vez. A lo largo del artículo veremos las utilidades de los ERP, así como las buenas prácticas a la hora de seleccionar y utilizar un sistema de este tipo.

Palabras clave: Sistemas ERP, Procesos de negocio, Selección, Buenas prácticas, Utilización.

1. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años se observa una tendencia creciente en el entorno empresarial hacia el desarrollo de los sistemas ERP, siendo este un pilar fundamental en las empresas.

En este artículo veremos las buenas prácticas a la hora de realizar una implantación de un sistema ERP y la comprensión de estos. Comenzaremos desde el proceso de la selección del sistema siguiendo con la implementación y llegando hasta el propio mantenimiento del sistema.

2. SELECCIÓN DE SISTEMAS

Referente a lo estudiado durante el proceso de investigación del artículo vamos a dividir la selección de los sistemas en 3 diferentes fases.

2.1. DOCUMENTACIÓN

Es el proceso de análisis de nuestras necesidades, cuyo objetivo se basa en definir las funciones que abarcará el sistema ERP en la empresa, es importante tener en cuenta los planes de empresa, además de las observaciones a largo plazo [1].

2.2. RECOGIDA DE INFORMACIÓN

Durante esta fase vamos a buscar en el mercado los diferentes ERP para realizar la elección conveniente a las necesidades vistas anteriormente. Podemos realizar una tabla o un listado con ventajas e inconvenientes de cada ERP analizado, así como diferentes características que podamos tener en cuenta a la hora de realizar nuestra selección.

A lo largo de este proceso es también importante mantener el contacto con los diferentes proveedores de los sistemas y reunir toda la información posible de cada opción, añadiendo esta información a la documentación. En base a los datos obtenidos podremos descartar los ERP que no se adecuen a lo que la empresa está buscando y, de esta forma, reducir el número de posibles candidatos.

2.3. SELECCIÓN

En este momento debemos tener la evaluación de nuestra recogida de información sobre cada ERP, así como su comparativa con los criterios de la empresa. En primer lugar, estos resultados deben de ser analizados por la empresa.

Una vez analizada la información, ya se tendrá una decisión sobre el ERP más adecuada y, por tanto, se comenzará el proceso de negociación donde revisaremos el proyecto de cara al futuro y todo lo acordado anteriormente, debemos tener en cuenta que este paso de las negociaciones puede extenderse por un tiempo e incluso puede cambiar nuestra decisión final, ya que diferentes proveedores al no ser seleccionados reformulen sus propuestas en base a factores económicos o a una diferente distribución de recursos [2].

Finalmente, tomada la decisión final del ERP se firmará el contrato con el objetivo de comenzar el proceso de implementación.

3. IMPLEMENTACIÓN

Durante esta fase formaremos la implementación del sistema ERP desde su inicio al mantenimiento.

3.1. SELECCIÓN DE CONSULTORA

Cuando hayamos seleccionado nuestro sistema ERP tendremos que comenzar a seleccionar el equipo de consultoría. En caso de que nuestro proveedor ERP también lo implemente podríamos saltar este paso. Llevaremos la misma práctica que con los proveedores, seleccionando cuál es el más indicado, teniendo en cuenta su experiencia, sus conocimientos y su capacidad [3].

La propuesta presentada por una consultora debe indicar el tiempo estimado de implementación, fecha de arranque, costos metodologías...

Es de alta importancia el entrevistarse con varios e ir descartando poco a poco, viendo las diferentes pruebas que nos ofrecen hasta llegar a tomar una decisión tal y como se hizo con los proveedores. Estos últimos también pueden hacer sugerencias sobre consultoras a tener en cuenta.

Finalmente, volveremos a realizar negociaciones hasta conseguir la propuesta definitiva de la consultora.

3.2. INSTALACIÓN Y PLANIFICACIÓN

Se comienza con la planificación de la implementación, en un cambio de este calibre, como es un nuevo sistema de trabajo, será vital el papel del departamento de RRHH y los directivos para involucrar a todo el personal en el uso del nuevo sistema [4].

Se realiza un cronograma de la implementación, que incluye la instalación del producto y los diferentes módulos de este, las pruebas y los cursos para el personal de la empresa que vaya a utilizar el sistema.

Los cursos son un factor a tener en cuenta, pues, como estos nos facilitan la implementación del sistema, se deberá controlar la asistencia del personal a ellos, incluido directivos. Si conseguimos una buena involucración en los cursos, tendremos un inicio a la utilización del sistema mucho más fluido.

En paralelo a los cursos se realiza el proceso de pruebas. Una vez está instalado el sistema se deben ejecutar todas las pruebas necesarias para validar el funcionamiento integral de este. Es fundamental la ejecución de pruebas de carga y validación de datos en los equipos de trabajos especializados [5].

3.3. ARRANQUE

Durante el proceso de arranque debemos tener en marcha nuestro sistema y capacitado a nuestro personal. Para un arranque exitoso vamos a utilizar algunas estrategias.

Es importante estar preparado para cualquier tipo de contingencia que se nos pueda presentar. Podremos elaborar planes de contingencias para continuar de la mejor forma posible. En caso de ser necesario, una buena práctica es el uso de una persona con experiencia en el sistema para que apoye al equipo de trabajo.

Debemos establecer tiempos para realizar cargas de datos y asegurar el éxito de todas las pruebas.

4. MANTENIMIENTO

Durante el mantenimiento debemos seguir la línea de lo que hemos propuesto y como objetivo tenemos la aceptación y consolidación del sistema en la empresa. Hay que tener en cuenta las indicaciones sólidas sobre las oportunidades de mejoras de los procesos y la corrección de fallos que se puedan encontrar. Es importante mantener siempre optimizado el sistema y obtener respuestas eficaces ante cualquier adversidad.

Debemos asegurar que el sistema está cumpliendo con todos los objetivos trazados. Para ello, involucraremos a todo el personal con el sistema y se proporcionará soporte a los usuarios que lo manejen. Además, comprobaremos que están haciendo un uso correcto del sistema. Verificaremos que la información que nos brinda el sistema sea exacta y veraz y continuaremos dando seguimiento al correcto funcionamiento de este, así como del equipo técnico.

Por ejemplo, podemos crear una categoría de normas y estándares para guiar al personal, que recoja ciertos riesgos en la utilización del sistema, y como consecuencia obtener fiabilidad, flexibilidad, seguridad y estabilidad.

Debemos tener cuidado con que los trabajadores se resistan a usar el sistema por falta de entendimiento. También tenemos que evitar el no aprovechamiento debido a la no actualización del sistema y menores beneficios por el uso indebido del sistema.

Un factor clave pueden ser los requerimientos, sugeridos por el personal que use el sistema ERP o por los directivos. La actualización con mejoras para el sistema es algo fundamental, sin embargo, hay que tener en cuenta el excesivo incremento de nuevos requerimientos, pues, como nos puede estancar, debemos estar atentos a que cada requerimiento precisa de una fase de pruebas y detección de errores y puede entrar en conflicto con otros procesos. Es decir, debemos tratar de que los nuevos requerimientos no sean un flujo continuo [6].

5. CONCLUSIÓN

Iniciar la compra de un sistema ERP es un cambio en la forma de trabajar y una costosa inversión en cuanto a lo económico, al tiempo y a otros recursos. Es decir, es un proceso complejo mediante el cual llevando una buena gestión es posible tener beneficios a corto plazo, como el tiempo fluidez.

Puede llegar a ser un proceso crítico con muchos puntos que pueden tener fallos de coordinación, pues es difícil controlar la implementación de un sistema en una organización, ya que está involucrando a una gran cantidad de personas y a su metodología de trabajo con este cambio.

Todas las organizaciones piensan en una buena y fiable implementación, por ello es necesario tomar precauciones y vigilar con cautela cada paso. Un fallo actual no resuelto puede dar lugar a otros y acabar provocando una gran cantidad de problemas, dando por fallido todo el sistema.

REFERENCIAS

- [1] Rivera, I., & Salazar, M. R. P. (2013). Guía de selección de ERP en las pequeñas y medianas empresas mexicanas. *Arbor*, 189(760), a025-a025.
- [2] Badenes, R. O., Gómez, H. G., & Navarro, V. G. (2018). Metodología para la selección de sistemas ERP para pymes. *3c Empresa: investigación y pensamiento crítico*, 7(4), 10-33.
- [3] Conceição Menezes, P. A. D., & González-Ladrón-de-Guevara, F. (2010). Maximización de los beneficios de los sistemas ERP. *JISTEM-Journal of Information Systems and Technology Management*, 7(1), 5-32.
- [4] González, L. M., & Prat, R. (2003). La implantación de sistemas ERP: Su efecto. *Partida doble*, (150), 32.
- [5] Vera, Á. B. (2006). Implementación de sistemas ERP, su impacto en la gestión de la empresa e integración con otras TIC. *Capic Review*, (4), 3.
- [6] Silvera, J. S., & Vargas, C. L. (2010). Modelo bidimensional de riesgos del mantenimiento de sistemas integrados de gestión. *Investigaciones europeas de dirección y economía de la empresa*, 16(3), 173-190.



Antonio José Guerrero Aguilar
Técnico Superior en Administración de Sistemas Informáticos en Red. Actualmente estudiante de tercer año de Ingeniería Informática en Sistemas de Información.

Blockchain y algoritmo de consenso Proof of Work

María Varo Moreno

Resumen— Blockchain o la cadena de bloques, es una cadena de bloques que contiene un conjunto de transacciones. Esta cadena de bloques no necesita de una entidad tercera verificadora que garantice la veracidad e integridad de los datos del bloque. Todo el proceso de verificación se hace a través del llamado algoritmo de consenso Proof of Work, el más usado hasta la fecha, pero que no es tan comprendido como debería. En este artículo te acercamos al mundo a bajo nivel de blockchain.

Palabras Claves— Blockchain, Bloques, Transacción, Minero, Algoritmo de Consenso, Proof of Work.

1. INTRODUCCIÓN

En este artículo se dará una introducción al mundo del blockchain y a los mecanismos y algoritmos que permiten el correcto funcionamiento de este gran ensamblamiento que supone la coordinación de todos los usuarios pertenecientes a la red de blockchain para garantizar la integridad de las transacciones.

2. BLOCKCHAIN

Históricamente[1] el dinero que poseía cada individuo correspondía a un registro anotado en un banco o libreta y que una entidad tercera certificaba como válido y lo gestionaba. Éste se trata de un sistema centralizado ya que una sola entidad es la responsable de la gestión y validación de la transacción. Con blockchain y el algoritmo de consenso Proof of Work[2] (PoW), ya no son necesarias entidades terceras verificadoras y aparece un sistema descentralizado o distribuido, basado en el peer to peer (p2p), donde todos los usuarios hacen de servidor, teniendo una copia de la libreta, distribuyéndola al resto de usuarios que la soliciten y llevando el control de las transacciones.

Blockchain permite que todos los usuarios verifiquen las transacciones y eliminan la figura intermedia que asegura la transacción y donde se deposita la confianza, garantizando la integridad de los registros.

2.1. Bloques

El bloque[3] es un registro limitado de transacciones entre usuarios. En la analogía del libro de cuentas, corresponde con una página de la libreta del libro que contiene todas las transacciones realizadas.

Cada bloque contiene como máximo 1Mb, que corresponde con unas 2000-2200 transacciones. La creación del bloque está regida por las siguientes reglas:

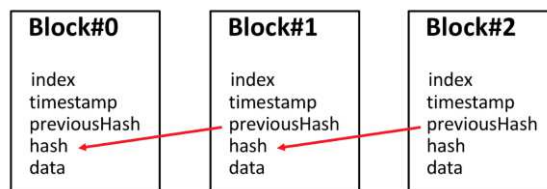
- Los bloques son .txt donde se registran las transacciones. Por ejemplo: Transaccion1 xxxx a yyyy por z bitcoins.
- Se genera exclusivamente 1 bloque cada 10 minutos,

por lo que se sabe el crecimiento aproximado del blockchain, 3-4 transacciones por segundo. En el siguiente punto se explica el minado de bloques, a partir del cual, el minero que mina un bloque, recibe una recompensa y el bloque es añadido al registro de bloques.

- El bloque minado es enviado al resto de mineros que tienen que validar por mayoría la validez del bloque generado. Aquí entra en juego el algoritmo de consenso.
- Para el bloque se genera un hash, generado por un validador o minero

Un bloque contiene:

1. Hash del bloque que le precede
2. Fecha y hora de creación del bloque
3. Recompensa y nick del minero
4. Transacciones del bloque
5. Un número que haga que se cumpla la condición necesaria para el hash pedido.



2.2 Minero

La figura del minero es indispensable en blockchain, ya que son los que producen los eslabones necesarios para mantener nuestro libro de cuentas actualizado.

Un minero es un usuario (más bien un procesador o conjunto de ellos), que como su palabra dice, mina bloques, lo que significa que genera bloques de transacciones que posteriormente serán distribuidos al resto de mineros para su validación y posterior distribución. Se estima que existen alrededor de 1.000.000 de mineros actualmente, y todos compiten por generar bloques y recibir la recompensa asociada. Pero generar un hash no es una simple iteración del SHA-256, comprende todo un proce-

so hasta encontrar el hash correcto. Este hash ha de empezar con 8 ceros al inicio. A esta acción se le conoce como prueba de trabajo (Proof of Work) y es el coste por el que han de pasar los mineros para conseguir su recompensa. Será explicado con más profundidad en el apartado siguiente.

La Prueba de Trabajo busca reducir el número de acciones fraudulentas al necesitar de inversión computacional, haciendo que se resuelvan pruebas por parte del procesador antes de minar el bloque, dificultando la tarea de los intentos de fraude.

Cualquier proceso de seguridad se basa en hacer que el coste exceda al beneficio. El minero que mine primero el bloque, tendrá el derecho de añadir su bloque al registro general y recibir la cantidad de criptomoneda estipulada en el momento de la generación del bloque. El primer bloque minado recibió la cantidad de 50 bitcoins por su minado. Esta cantidad se reduce cada 210.000 bloques minados, hasta acabar con los 22.000.000 millones de bitcoins que están programados para existir. Por lo que minar bloques, genera cada vez una recompensa en criptomoneda menor.

¿Y si aún así hay intentos fraudulentos de minación de bloques? ¿Qué pasa si existe un minero corrupto que introduzca transacciones ilícitas en el bloque para beneficio propio?

Este sistema es más seguro cuando más nodos se encuentran conectados, entendiéndose nodos como mineros y usuarios conectados. Si asumimos que se mina un bloque fraudulento, este bloque, como cualquiera minado, es enviado al resto de nodos que validan las transacciones. Si la validación no es satisfactoria, los nodos desechan el bloque. Debido a los protocolos de consenso, si más del 51% de nuestros nodos desechan la validación, esta es eliminada y entonces la cadena oficial es la cadena más larga. Por lo que, si el minero corrupto encuentra el hash correcto del bloque ilícito y se añade al registro general, tras un tiempo, el resto de mineros irán encontrando también el hash de sus bloques y la cadena más larga sería la de ellos, ya un minero no puede competir contra la potencia de cálculo acumulada del resto de mineros. La regla de la cadena más larga también aplica en el caso de que dos mineros encuentren el hash de su bloque en el mismo instante de tiempo.

¿Y si un gran número de mineros se ponen de acuerdo para falsificar y validar un bloque? Asumiendo que el número de nodos inmersos en el fraude fuera tan alto como para sumar entre 11 ellos más del 51% del cómputo total, ya que es lo necesario para siempre sobrepasar la capacidad de generar bloques del resto de la red, entonces se conoce como Ataque del 51%. Este ataque asume democráticamente que el bloque corrupto es legítimo. La realidad de este tipo de ataques es que su practicidad es nula, debido a la complejidad técnica que entraña y al coste computacional que supone. Cada nuevo nodo, añade robustez al sistema. La minería es posible con un CPU, GPU o ASIC. La potencia de cálculo aumenta con el GPU y se dispara con el ASIC aunque también la inversión necesaria es mayor. Acompañando el hardware con un software de minado como EasyMiner o BFGMiner, ya es posible empe-

zar a minar.

2.3 Cadena de bloques

Una vez sabemos qué es un bloque y cómo minarlo, se explica el concepto de cadena bloques. La creación de la cadena se genera enlazando los bloques. Se consigue añadiendo a cada bloque, el hash del bloque anterior, obteniendo un tipo de enlace en el que cada bloque tiene la referencia a su bloque anterior. De este modo, si hay un cambio en un bloque, el hash cambia y toda la cadena cae como un dominó, al no poder validar el bloque previo. En ese caso, eligiéndose registro general la cadena más larga existente.

Por último, anteriormente se habló de que blockchain sigue una arquitectura descentralizada, esta arquitectura es la contraposición a la arquitectura centralizada, en donde, toda la información está recogida en un solo organismo, sino en varios organismos los cuales se van enviando información constantemente.

4. ALGORITMO DE CONSENSO PROOF OF WORK

Un algoritmo de consenso[4] permite verificar si quien contribuye al blockchain lo hace de forma legítima o está incurriendo en fraude. Permite la verificación, evitar ataques mediante el 51% y cualquier mecanismo que permita mantener al correcto crecimiento del blockchain.

Proof of Work es el algoritmo pionero de blockchain. Consiste en la generación de un hash codificado en SHA-256 a partir de los datos del bloque.

La prueba de trabajo se puede dividir en las siguientes etapas[5]:

1. El nodo establece conexión con la red y se le asigna una tarea que requiere un cómputo que resulta en un coste computacional y eléctrico para el nodo. Se trata de generar un hash con 8 ceros iniciales para el bloque dado.
2. Se inicia la resolución del acertijo, con el coste computacional correspondiente a su resolución. A este proceso se le conoce como minería
3. Una vez se resuelve el hash, se comprarte con el resto de la red su resultado para proceder a su verificación. Si cumple con los requisitos exigidos se comprarte con la red.
4. Si la confirmación es correcta, se recibe una ganancia por el trabajo computacional

4.1 Generación del hash

La condición para generar un hash válido[6] es que su inicio sean ocho ceros consecutivos, siendo de la forma $x00000000xxxxxxx$. Para generar el hash correcto, se hace con un número que se añade al final del fichero y se itera hasta que con el número introducido, se produce el hash que satisface la condición.

Este algoritmo hexadecimal genera una cadena de 64 caracteres que garantiza su inmutabilidad, ya que solo es el mismo si el contenido del fichero no ha sido modifica-

do. SHA-256 no tiene colisiones conocidas, lo que significa que con las funciones que generan el .hash, no se producen dos hash idénticos para dos mensajes diferentes. Esto garantiza seguridad, ya que hace resistente a la clave a ataques computacionales, evitando posibilidad de generar conjuntos de datos que generen un .hash específico y te permitan acceder a una información "segura". SHA-256 es un algoritmo con efecto avalancha, cualquier pequeño cambio en el mensaje, produce un gran cambio en la generación del hash.

5. CONCLUSIONES

Blockchain es una tecnología con mucho recorrido y que nos garantiza un alto grado de seguridad y robustez en la red. Consigue eliminar los intermediarios sin necesidad de registros oficiales aun garantizando la autenticación de la información almacenada en las transacciones. Usa el concepto de prueba de trabajo para reducir la fraudulencia en la red durante la generación de bloques nuevos para la cadena de trabajo. Este concepto de prueba de trabajo genera controversia y se están realizando estudios para comprobar el impacto medioambiental que podría tener debido al alto coste computacional que requiere por parte de todos los mineros.

REFERENCIAS

- [1] Wikipedia explicando Proof of Work, https://en.wikipedia.org/wiki/Proof_of_work
- [2] Explicación de Proof of Work para begginers. <https://www.youtube.com/watch?v=3EUAcxhuoU4>
- [3] Explicación del algoritmo de blockchain. <https://santandercto.com/como-funciona-blockchain-para-dummies/>
- [4] Algoritmos de consenso de blockchain <https://101blockchains.com/es/algoritmos-de-consenso-blockchain/>
- [5] Introducción a la tecnología Blockchain. <https://www.xataka.com/especiales/que-es-blockchain-la-explicacion-definitiva-para-la-tecnologia-mas-de-moda>
- [6] Vídeo demostración del proceso de generación de un hash para blockchain. https://www.youtube.com/watch?v=_160oMzblY8



María Varo Moreno recibió el título de Grado superior en Administración de Sistemas Informáticos en Red 2019 y está actualmente cursando el grado de Ingeniería Informática por la Universidad Pablo de Olavide. Desde 2014 hasta 2020 estuvo en el sector privado tanto nacional como internacional y desde 2021 ha estado de alumna interna en el departamento de Informática de la Universidad de Pablo de Olavide.

La Raspberry Pi 400 como herramienta básica de alfabetización digital

Iván Rodríguez Ruiz

Resumen—La Raspberry pi 400 es un ordenador de placa reducida que permite, en un formato compacto y con un coste muy asequible, acercar a las nuevas tecnologías a amplios sectores de la población. Posee un amplio catálogo de aplicaciones de software libre que incluye ofimática, visores multimedia, navegadores y entornos de desarrollo para Java y Python (ambos lenguajes ya instalados por defecto) además de puertos preparados para aprender electrónica. Todo ello para brindar un futuro prometedor en el ámbito laboral para aquellas personas que no se puedan permitir elevadas inversiones en hardware y software, además de permitir a los centros de enseñanza informática estandarizar el equipamiento disponible en las clases.

Palabras Claves— Raspberry Pi, alfabetización, docencia, empleo y formación

Iván Rodríguez Ruiz. Escuela Politécnica Superior, Universidad Pablo de Olavide. iarodrui@alu.upo.es

1. INTRODUCCIÓN

Todo comenzó a mediados los años 80. Un niño de 9 años recibió en navidad un regalo que le cambiaría la vida: un ZX Spectrum 48k. Un ordenador alojado en un teclado que se conectaba directamente al televisor. Apenas unos meses después escribía su primer programa: un juego en BASIC. Hoy, 35 años después, imparte clases de programación y escribe este artículo sobre un dispositivo que va a revolucionar la enseñanza en nuevas tecnologías: *La Raspberry Pi 400*.



Fig. 1 ZX Spectrum 48k [1]

Pero sin duda el aspecto más interesante, además de su potencia y versatilidad, es el precio: sobre los 80€ (se vende el Kit oficial completo por unos 105€).



Fig. 2 Kit Raspberry Pi 400 [2]

El kit incluye, además del propio dispositivo, una fuente de alimentación, un ratón, el cable Micro-HDMI a HDMI (si el monitor sólo tiene VGA es necesaria la compra de un adaptador HDMI-VGA) y una tarjeta SD con el sistema Operativo Raspberry PI OS de 32 Bits preinstalado.

2. LA RASPBERRY PI 400

2.1. Características

La Raspberry Pi 400, al igual que el Spectrum o dispositivos similares de los 80/90 como Amstrad o Commodore, es un ordenador completo alojado en un teclado y que permite su conexión directa a cualquier tipo de monitor. Sus especificaciones son las siguientes:

- Procesador: ARM Broadcom BCM2711B0, quad-core Cortex-A72, a 1.8Ghz
- RAM: 4 GB LPDDR4-3200
- Conectividad: Wi-Fi 802.11.b/g/n/ac Bluetooth 5.0, BLE – Gigabit Ethernet
- Puertos: GPIO 40 pines, 2xMicro HDMI, 1xUSB2, 1xUSB3, MicroSD y USB-C (alimentación)

2.2. Uso en docencia: un caso real

El pasado 11 de Febrero de 2022 comencé un curso con Certificado de Profesionalidad de *Confección y publicación de páginas web* (<http://innforma.doshermanas.es/cursos/>) organizado por el Ayuntamiento de Dos Hermanas. Las tecnologías a impartir son:

- FrontEnd: HTML5, CSS3, JavaScript y Angular 11
- Backend: PHP8, Symfony6, MySQL8/MariaDB
- CMS: WordPress5 y Drupal9
- Servidores, control de versiones e IDs: Apache2, GIT, Visual Studio Code 1.64

Dicho curso se imparte sobre Elementary OS 6 Odin, un derivado de Ubuntu 20.04. Nada más comenzar el curso invité a los alumnos a traer sus portátiles (si los tienen) para usarlos en clase. Pero una alumna carecía de ordenador en casa.

Solución: comprar la *Raspberry Pi 400*.

Apenas una semana después ya eran 5 alumnos los que habían comprado el Kit. Y todos han podido instalar, sin problemas, todas las tecnologías presentes en el curso.

Aunque es evidente que la interfaz es visualmente más sencilla que Elementary, Raspberry OS cumple perfectamente con sus objetivos.

Únicamente hemos echado en falta la posibilidad de instalar tres aplicaciones que no son básicas, pero que normalmente lo añadimos en este tipo de cursos:

- *Notable* → Un editor de Markdown (en su lugar estamos usando el propio Visual Studio Code con la extensión Markdown)
- *MySQL Workbench*, un editor gráfico para este gestor de bases de datos. En su lugar hemos instalado MariaDB y empleamos la Terminal para realizar todos los scripts que vemos durante el curso.
- *Symfony Cli*, que permite ejecutar servidores web sin necesidad de usar Apache. De todos modos se puede realizar la instalación completa de *Symfony6* sin ningún problema.

También nos hemos encontrado con agradables sorpresas, como encontrarnos que el sistema operativo ya tiene instaladas algunas utilidades sencillas pero muy prácticas como *scrot*, que permite realizar una captura de pantalla con retraso mediante la consola, guardando el resultado en formato png dentro de la carpeta personal.

Un ejemplo de su uso:

```
Scrot -d 5 # captura con 5 sgs de retraso
```

Hasta tal punto ha llegado la versatilidad de la Raspberry Pi 400 que, finalmente, hemos permitido su uso en los exámenes del curso, incluyendo la elaboración de un CRUD completo realizado con PHP y MySQL. Sobre todo viendo la experiencia tan negativa del uso de portátiles propios o de los mismos equipos de clase, con problemas de arranque dual entre *Windows* y *ElementaryOS*.

2.3. Sistemas operativos instalables

Aunque el Kit ya viene con el Raspberry Pi OS de 32 bits instalado, podemos usar una aplicación de la propia *Raspberry* (<https://www.raspberrypi.com/software>), llamada *Raspberry Pi Imager* con versiones para Windows, MacOS y Ubuntu.

Dicha utilidad permite la instalación de varios sistemas operativos en cualquier tarjeta SD, según podemos ver en la siguiente tabla:

TABLA 1
SISTEMAS OPERATIVOS INSTALABLES LA RASPBERRY PI 400

Nombre	Versiones
Raspberry Pi OS	2022 (32/64 Bits)
Ubuntu	21.10 (32/64Bits), 20.04.4 LTS
Manjaro	21.12 (KDE, XFCE, Mate, Gnome)
RISC OS	5.28
RetroPie / Recalbox	(Emulación y Game OS)

También se puede instalar Windows10, pero no con el instalador oficial de Raspberry.

3. SOFTWARE EDUCATIVO

3.1. Paquetes instalados

El sistema operativo *Raspberry Pi OS*, tanto en versiones de 32bits como en 64bits (aparecido en enero de 2022), incluye multitud de software ya instalado y preparado para comenzar a trabajar.

El enfoque de la inclusión de estos paquetes dentro del dispositivo es claro: fomentar los conocimientos en nuevas tecnologías para todo tipo de edades, especialmente para los más pequeños, siendo un punto de partida ideal para el inicio los 6-7 años.



Fig. 3 Scratch en Raspberry Pi OS

Y entre todo el software destaca, sobremanera, *Scratch*, un motor de videojuegos desarrollado en el MIT que emplea bloques para implementar código.

Scratch es ideal para iniciar en los conceptos de programación a los más pequeños: eventos, bucles, condicionales, etc. A partir de su manejo, permite ir preparando la mente para conceptos más abstractos como la programación orientada a objetos, usando lenguajes tan conocidos como *Java* o *Python*.

Raspberry Pi OS incluye, en su menú de programación, entornos de desarrollo perfectos para el aprendizaje como *Greenfoot*, el equivalente *Scratch* de *Java* o *Mu*, un entorno muy sencillo para aprender *Python*.

Además de estos, se incluyen entornos más complejos aunque igualmente ideales para el aprendizaje, como *BlueJ* (para *Java*) o *Thonny* (*Python*). Y ambos lenguajes ya vienen instalados y configurados por defecto en la instalación básica del sistema operativo.

Pero el enfoque educativo de las Raspberry Pi OS no queda sólo en la programación a alto nivel, sino que se adentra de manera muy acertada en el mundo de la electrónica. Para ello, tendremos en el menú *Educación* la aplicación *SmartSim*, un diseñador de circuitos lógicos digitales con el que poder sacar partido a nuestro puerto GPIO de 40 pines. Con dicho puerto, además, e instalando aplicaciones adicionales, podemos adentrarnos en el mundo de la robótica o en el desarrollo de sistemas informáticos en tiempo real.

Además de todo lo anterior, incluye aplicaciones esenciales en todo sistema operativo, siempre libres, como la consola de comandos *LXTerminal*, el navegador *Chromium*, el reproductor *VLC* o la suite ofimática *LibreOffice*, aunque en este caso en la versión 6 (cuando la actual es la 7), además de varios juegos educativos.

Por último veremos en la tabla siguiente, y de manera resumida, el software más destacado que viene preinstalado en Raspberry Pi OS:

TABLA 2
SOFTWARE INSTALADO EN LA RASPBERRY PI OS

Software	Descripción
Scratch	Motor de videojuegos
Greenfoot / BlueJ	Entornos de desarrollo para Java
Mu / Thonny	Entornos de desarrollo para Python
Sense Hat Emulator	Sensores
SmartSim	Diseñador de circuitos electrónicos
Sonic PI	Codificación en vivo (Ruby)
Geany	IDE de propósito general
LibreOffice	Ofimática
VLC	Reproductor Multimedia
Chromium	Navegador de internet
LXTerminal	Consola de comandos
PDF Viewer	Visor de documentos PDF

Y por supuesto, algunos juegos: *Boing*, *Bunner*, *Cavern*, *Myriapod*, *Soccer* y varios juegos educativos basados en *Python*.

3.2. Alfabetización Digital

Todo lo anteriormente expuesto en este artículo nos lleva a la pregunta principal: ¿Por qué usar la Raspberry Pi 400 en centros educativos?

Las ventajas son claras:

- Bajo coste
- Estandarización del software/hardware
- Fácil de usar y mantener

Como experiencia personal, la más interesante de las anteriores es sin duda la estandarización tanto en el software que se imparte como en el hardware que se emplea. Todos los miembros de la comunidad educativa, desde docentes hasta el alumnado, emplean el mismo dispositivo, con iguales capacidades. Y sobre todo se evita problemas de uso de hardware diverso.

Mientras se imparten las clases es muy estresante comprobar como algunos equipos se congelan (con discos duros al final de su vida útil) o no permiten la instalación de algunas herramientas. Eso simplemente desaparece usando todos el mismo dispositivo.

Y en concreto, la Raspberry Pi 400 permite minimizar ese problema. Es más, podemos emplear infraestructura hardware que ya tuviésemos en nuestras aulas:

- *Monitores* (si no tienen puerto HDMI, bastará con comprar un adaptador HDMI-VGA que cuesta unos 7€)
- *Ratones* (con salida USB)
- *Cargadores para alimentación*: USB-C de 3A (que llevan muchos móviles modernos).

Como curiosidad, comentar que algunos portátiles modernos ya no llevan puerto Ethernet para conectarse a la red local vía cable. La Raspberry Pi 400 si lo lleva, evitando posibles problemas con la Wifi.

Por otro lado tenemos la certeza de la compatibilidad del software a emplear en las clases. Por ejemplo, podremos instalar un servidor web como *Apache*, un gestor de bases de datos como *MariaDB* o un entorno de desarrollo versátil como *Visual Studio Code*. Además del resto de herramientas de programación y electrónico que hemos visto previamente.

Y todo dentro de un sistema operativo basado en Debian que nos permitirá adentrarnos dentro del mundo de GNU/Linux y el software libre.

AGRADECIMIENTOS

El autor desea realizar los siguientes agradecimientos:

- *Ayuntamiento de Dos Hermanas* → Organizadora del curso *Confección y Publicación de Páginas Web* (Expiente 41/2021/B/0240)
- *Soledad Triguero* → Alumna del curso de *Diseño Web* que me cedió su Raspberry Pi para hacer pruebas y disfrutarlo durante unos días.

REFERENCIAS

- [1] File:ZX Spectrum+.jpg, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:ZX_Spectrum%2B.jpg&oldid=628604084 (last visited February 19, 2022).
- [2] File:Raspberry Pi 400 (50586757772).jpg, [https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Raspberry_Pi_400_\(50586757772\).jpg&oldid=592933069](https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Raspberry_Pi_400_(50586757772).jpg&oldid=592933069)



Iván Rodríguez Ruiz Técnico Superior de Administración de Sistemas en el I.E.S. Punta del Verde de Sevilla, con estudios de la diplomatura de Ciencias Empresariales de la Universidad de Sevilla. Actualmente estudia el grado de Ingeniería Informática en Sistemas de Información de la Universidad Pablo de Olavide, es Programador Senior en Ricoh España Digital Services y Profesor de FPE en el Ayuntamiento de Dos Hermanas.