

## EFFECTO DEL DIFERULOILMETANO EN LA SOBREVIVENCIA DE *C. ELEGANS* EXPUESTOS A TXP

Ana Rosa Virgen Solano<sup>1</sup>, Gabriela Camargo Hernández<sup>2</sup>, María Fernanda Buelna-Avilés<sup>3</sup>, José Roberto Cruz-Lozano<sup>3</sup>, Manuel de Jesús Gallegos Saucedo<sup>4</sup>, Miguel Antonio Maldonado Rubio<sup>5</sup> y Leonardo Hernandez Hernandez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Colima-Facultad de Ciencias Químicas,

<sup>2</sup>Universidad de Guadalajara,

<sup>3</sup>Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara,

<sup>4</sup>Doctorado en Farmacología Centro Universitario de Ciencias de la Salud UdeG,

<sup>5</sup>Unidad Académica de Agricultura-Universidad Autónoma de Nayarit. anavirgen01@gmail.com

### RESUMEN

Diversos plaguicidas están relacionados a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), cuyo exceso lleva a una condición conocida como estrés oxidativo, que ha sido asociada a enfermedades crónico-degenerativas. Este estudio se realizó con *C. elegans* de la cepa N2 WT (silvestre) del tipo Bristol de edad sincronizada, cultivados en placas de agar NGM y alimentados con *E. coli* OP50-1. Primero, se realizó un ensayo de sobrevivencia de adultos al plaguicida y al antioxidante, donde se expusieron grupos a diferentes concentraciones de Toxafeno (TXP) y otros grupos a diversas concentraciones de Diferuloilmetano (DFM), se observó la sobrevivencia a distintas horas hasta las 24 horas, para obtener las dosis de trabajo que permitieran la presencia de nematodos vivos durante más tiempo y así observar los efectos crónicos. Después, se eligió trabajar con 10 µg/ml de TXP y 100 µM de DFM en nematodos sincronizados en etapa larvaria 1 (L1). Los cuales fueron organizados en tres grupos: control, TXP y TXP+DFM, todos fueron expuestos en placas de agar NGM a dichos compuestos hasta la adultez (3 días a 20° C). Se visualizaron en microscopio digital a 20X y 40X.

Se obtuvo el porcentaje de animales afectados por grupo. Estos resultados mostraron que los nematodos adultos expuestos a TXP no desarrollaron vulva o ésta fue defectuosa, este efecto no se observó en el control o TXP+DFM, esto sugiere que el efecto de TXP en el desarrollo de la vulva fue revertido por el antioxidante Diferuloilmetano, lo que nos indica que el daño fue por estrés oxidativo. El efecto del TXP sobre la vulva, indicaría una posible intervención de este compuesto sobre la vía de señalización del factor de crecimiento epidérmico (EGF), que está implicado en el desarrollo vulvar.

### INTRODUCCIÓN

El aumento en los niveles de radicales libres, en especial de las especies reactivas de oxígeno (ERO) y la producción de las ERO, aunque es un atributo de la vida aeróbica normal, también son causadas por contaminantes del medio ambiente, y es característico del estrés oxidativo, donde hay una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes, por un déficit de estas defensas o por un aumento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno [1], lo cual induce daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos [2]. Consecuentemente, el estrés oxidativo se ha asociado a toda una serie de patologías crónicas que inician de manera solapada, invalidantes y extremadamente costosas.

En este sentido, se ha sugerido que algunos agentes tóxicos puedan inducir el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas mediante un mecanismo que involucraría la inducción de estrés oxidativo. Se han hecho varios estudios epidemiológicos que relacionan la exposición a plaguicidas como factor de riesgo para desarrollar enfermedades crónico-degenerativas [3, 4].

Estudios relacionados con el estrés oxidativo se han realizado en organismos modelo, como el nematodo *Caenorhabditis elegans* [5]. Este animal ha mostrado ser un modelo económico y de

fácil mantenimiento y manejo [6] en el laboratorio, posee mecanismos celulares y moleculares análogos al del ser humano, y ofrece una visión integrada de la respuesta a diversos tipos de estrés oxidativo, que puede llevar al diseño de estrategias terapéuticas más específicas; así como a señalar la importancia de la regulación de compuestos oxidantes capaces de superar los mecanismos de defensa del organismo.

## MARCO TEÓRICO

Se sabe que un número considerable de plaguicidas han sido relacionados con la producción de especies reactivas de oxígeno [7]. Los plaguicidas se han clasificado según su uso (insecticidas, fungicidas, herbicidas, etc.) o de acuerdo con la familia química (organoclorados, organofosforados, etc.).

Existe evidencia epidemiológica que relaciona la exposición ocupacional a plaguicidas con la incidencia de enfermedades crónicas como el cáncer [8] y diversas alteraciones relacionadas al riesgo genotípico de estos compuestos [9]. Particularmente se ha reportado que la exposición a plaguicidas organoclorados está correlacionado con la disrupción endocrina [10], disfunciones reproductivas e inmunes [11] y cáncer [12, 13]. Los enlaces cloro-carbono confieren a estos compuestos dos características muy importantes, en primer lugar, son compuestos considerados altamente persistentes, ya que el enlace entre el carbono y el halógeno son muy estables, confiriéndole a la molécula un tiempo de degradación de varios años [14], también son hidrofóbicos, por lo que tienden a acumularse en el tejido adiposo [15]. En este caso, la exposición en humanos ocurre principalmente por la ingestión de alimentos contaminados, inhalación, absorción a través de la piel y frecuentemente durante la operación de control de plagas tanto en el hogar como en áreas turísticas.

Ahora bien, existen numerosos reportes con relación a que los plaguicidas organoclorados inducen la producción de especies reactivas de oxígeno [12, 13, 16]. Este aumento en las ERO se ha relacionado con citotoxicidad en líneas celulares, y en tejido hepático, epidérmico y nervioso [17] y genotoxicidad con posible asociación a procesos carcinogénicos [13, 17].

En este caso en particular del plaguicida toxafeno (TXP), que es una mezcla de compuestos organoclorado diferentes derivada de la esencia de terbentina, de acuerdo con la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR, por sus siglas en inglés) de Estados Unidos, produce daño en el sistema nervioso, hígado y riñones, y aunque no se ha demostrado que produzca cáncer en humanos, se le ha considerado que sea razonable predecir que sea carcinogénico, basado en experimentos realizados en modelos animales [18]. Hasta donde tenemos conocimiento, no existen reportes donde se establezca que el daño inducido por el TXP sea mediado por la producción de ERO, aunque es razonable suponer esta posibilidad, toda vez que existe evidencia de que pesticidas con los que comparte constitución química, particularmente el Endosulfan (otro derivado de la esencia de terbentina), al ser compuestos organoclorados se acumulan en el cuerpo y realzan la producción de ERO [13, 16].

Por otro lado, la evaluación de los efectos tóxicos de los contaminantes ambientales puede ser estudiada *in vivo*. El nematodo *Caenorhabditis elegans* se ha convertido en un buen modelo animal en la investigación de farmacología y toxicología, debido a su capacidad para recrear algunas condiciones patológicas humanas a nivel molecular y celular, ya que la mayor parte de las rutas de señalización están altamente conservadas en los nematodos y mamíferos [19]. Este es un nematodo que habita en los suelos de diversas regiones del mundo, ya que sus requerimientos de sobrevivencia son mínimos, como el oxígeno, ambiente húmedo y bacterias para alimentarse. Mide 1 mm de longitud y se pueden encontrar machos y hermafroditas [20]. Su cutícula es transparente, lo que facilita su observación en el laboratorio. Consecuentemente para determinar el posible daño oxidativo que provoca este pesticida organoclorado expusimos al nematodo desde su etapa larvaria hasta la edad adulta.

Por otro lado, se ha estudiado el efecto de diversos compuestos con capacidad de combatir a los radicales que generan los procesos oxidativo. Un grupo importante de antioxidantes naturales es el grupo de los polifenoles, que como su nombre lo indica, son un grupo de compuestos naturales

con estructuras de fenol [21]. Entre ellos encontramos al diferuloilmetano (DFM). Se han estudiado las propiedades antioxidantes del DFM y se ha encontrado que ha sido capaz de penetrar en el medio polar interior de las células para protegerlos contra efectos tóxicos provocados por especies reactivas de oxígeno, ya que su estructura tiene la capacidad de conjugar electrones entre dos anillos de fenilo [22]. En este sentido, probamos si este daño inducido por el TXP es prevenido por el antioxidante diferuloilmetano.

## METODOLOGÍA

Se utilizaron con nematodos *C. elegans* de la cepa N2 WT (silvestre) del tipo Bistol obtenida del Caenorhabditis Genetics Center (CGC, Minneapolis, MN, EUA). Los animales fueron cultivados en placas de Agar-NGM en condiciones estándar a 20 °C y alimentados con la cepa OP50-1 de *E. coli* de acuerdo con los procedimientos estándar [20]. Para transferir los animales se utilizó el buffer M9 [20]. Como agente oxidante se utilizó TXP y como antioxidante el diferuloilmetano.

**Curvas de sobrevivencia.** Se realizaron para TXP y DFM con el fin de encontrar la dosis más adecuada para observar los efectos crónicos de ambos compuestos. Se utilizaron nematodos adultos en medio M9 en placa de 24 pocillos, con una n=40 nematodos aproximadamente para cada concentración. En el caso del DFM se observó la sobrevivencia cada hora las primeras 5 horas y a las 24 utilizando para diferentes concentraciones (0.1, 1, 10, 100 y 1000 µM). La sobrevivencia al TXP fue cuantificada cada día por 5 días empleando concentraciones de 100 y 500 µg/mL y en otro ensayo cada hora por 5 horas con las concentraciones 0.01, 0.1, 1 y 10 µg/mL. El porcentaje de sobrevivencia se realizó mediante la cuantificación de animales vivos con la detección de movimiento voluntario en respuesta al toque con un alambre de platino estéril. Con los resultados se realizaron las gráficas en el software SigmaPlot 11.0.

**Ensayo de exposición.** Nematodos en etapa L1, previamente sincronizados, se organizaron en tres grupos: Grupo control, nematodos transferidos placas de Agar NGM; Grupo TXP, nematodos trasladados a placas de Agar NGM con TXP (10 µg/mL); y Grupo TXP/DFM, nematodos cultivados en placas de Agar NGM con TXP (10 µg/mL) y DFM (100 µM). Todas estas placas fueron sembradas con *E. coli* OP50-1 e incubados por 3 días a 20°C. Después fueron montados en almohadillas de agarosa al 2% con azida de sodio 40 mM para inmovilizarlos, y se visualizaron utilizando un microscopio digital a 20X y 40X aumento.

**Análisis estadístico.** Todos los análisis estadísticos fueron realizados usando el software SigmaPlot 11.0. Los datos resultantes fueron presentados como media ± error estándar (ES) y las diferencias entre grupos fueron estimados con una ANOVA de una vía. La prueba post-hoc de Tukey se utilizó para controlar comparaciones múltiples. Se consideró una  $P < 0.05$  para indicar una diferencia estadísticamente significativa entre grupos.

## RESULTADOS

### Ensayos de sobrevivencia

A partir de los resultados de la gráfica de sobrevivencia al antioxidante DFM se estableció la concentración de 100 µM como la concentración de DFM más conveniente para trabajar, porque fue la dosis en la que se observó la mayor sobrevivencia que mantuvo por mayor tiempo de exposición. Por su parte, la gráfica de sobrevivencia de Kaplan-Meier de los nematodos expuestos a TXP muestra que concentraciones desde 100 µg/mL y superiores inducían la muerte del más del 50% de la población de *C. elegans* a los 5 días, y provocan la entrada a la etapa alternativa de Diapausa (Dauer) de resistencia al estrés, sin permitir que los sobrevivientes llegaran a la edad adulta. Por lo anterior se decidió realizar otro ensayo de sobrevivencia en horas donde se encontró que concentraciones de 0.01, 0.1, 1 y 10 µg/mL mostraron tasas de sobrevivencia de alrededor del 80% por lo que consideramos una la concentración de 10 µg/mL adecuada para los experimentos posteriores

### Ensayo de exposición

Los animales expuestos a TXP mostraron un desarrollo deficiente o nulo de la vulva en la edad adulta en el 66.66% de los nematodos expuestos al plaguicida. Este efecto no fue observado en los animales control o en los animales expuestos a TXP+DFM.

### CONCLUSIONES

La exposición al compuesto organoclorado indujo efectos tóxicos: agudos y crónicos sobre el organismo modelo *C. elegans*, dependiendo de la dosis aplicada y el tiempo de aplicación. Concentraciones arriba de 100 µg/mL provocaron la muerte del 60% de los individuos adultos y la entrada en la etapa alternativa de desarrollo de los nematodos en estado larvario, probablemente por la disfunción mitocondrial producto del aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno. Dosis bajas de Toxafeno provocaron un desarrollo deficiente o nulo de la vulva en el nematodo.

Asimismo, el diferuloilmetano previno el efecto de la exposición crónica de Toxafeno a través de un proceso de barrido de radicales libres, condición que confirma que el mecanismo de acción del efecto del toxafeno observado en este trabajo involucra daño inducido por estrés oxidativo, probablemente sobre la vía de señalización del factor de crecimiento epidérmico (EGF), que está implicado en el desarrollo vulvar.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Venereo Gutiérrez, J.R., *Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes*. Rev Cubana Med Milit 2002. **31**(2): p. 126-33.
2. Avello, M. and M. Suwalsky, *Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección*. Atenea, 2006. **494**(2): p. 161-172.
3. Horrigan, L., R.S. Lawrence, and P. Walker, *How sustainable agriculture can address the environmental and human health harms of industrial agriculture*. Environ Health Perspect, 2002. **110**(5): p. 445-56.
4. Baldi, I., et al., *Neurodegenerative Diseases and Exposure to Pesticides in the Elderly*. American Journal of Epidemiology, 2003. **157**(5): p. 409-414.
5. Koon, J.C. and T.J. Kubiseski, *Developmental arrest of Caenorhabditis elegans BRAP-2 mutant exposed to oxidative stress is dependent on BRC-1*. J Biol Chem, 2010. **285**(18): p. 13437-43.
6. Johnson, J.R., et al., *Caenorhabditis elegans: a useful tool to decipher neurodegenerative pathways*. Biochem Soc Trans, 2010. **38**(2): p. 559-63.
7. Cicchetti, R. and G. Argentin, *The role of oxidative stress in the in vitro induction of micronuclei by pesticides in mouse lung fibroblasts*. Mutagenesis, 2003. **18**(2): p. 127-132.
8. Weichenthal, S., C. Moase, and P. Chan, *A review of pesticide exposure and cancer incidence in the agricultural health study cohort*. Cien Saude Colet, 2012. **17**(1): p. 255-70.
9. Martínez-Valenzuela, C. and S. Gómez-Arroyo, *Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas*. Revista internacional de contaminación ambiental, 2007. **23**(4): p. 185-200.
10. Lemaire, G., et al., *Effect of organochlorine pesticides on human androgen receptor activation in vitro*. Toxicol Appl Pharmacol, 2004. **196**(2): p. 235-46.
11. Reed, A., et al., *Immunomodulation of human natural killer cell cytotoxic function by organochlorine pesticides*. Hum Exp Toxicol, 2004. **23**(10): p. 463-71.
12. Band, P.R., et al., *Prostate Cancer Risk and Exposure to Pesticides in British Columbia Farmers*. Prostate, 2011. **71**(2): p. 168-183.
13. Chiappini, F., et al., *Reactive Oxygen Species and Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 Mediate Hexachlorobenzene-Induced Cell Death in FRTL-5 Rat Thyroid Cells*. Toxicological Sciences, 2013. **134**(2): p. 276-290.

14. Tsai, W.T., *Current status and regulatory aspects of pesticides considered to be persistent organic pollutants (POPs) in Taiwan*. Int J Environ Res Public Health, 2010. **7**(10): p. 3615-27.
15. Rugman, F.P. and R. Cosstick, *Aplastic anaemia associated with organochlorine pesticide: case reports and review of evidence*. J Clin Pathol, 1990. **43**(2): p. 98-101.
16. Shao, B., et al., *DNA damage and oxidative stress induced by endosulfan exposure in zebrafish (Danio rerio)*. Ecotoxicology, 2012. **21**(5): p. 1533-1540.
17. Fenoglio, C., et al., *Exposure to heptachlor: Evaluation of the effects on the larval and adult epidermis of Rana kl. esculenta*. Aquatic Toxicology, 2009. **91**(2): p. 151-160.
18. ATSDR. *ToxFAQs™ for Toxaphene*. 2010 September 1st, 2010 [cited 2013 August 1st, 2013]; Available from: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tf.asp?id=547&tid=99>.
19. Leung, M.C., et al., *Caenorhabditis elegans: an emerging model in biomedical and environmental toxicology*. Toxicol Sci, 2008. **106**(1): p. 5-28.
20. Hope, I.A., *C. elegans : a practical approach*. 1999, Oxford: Oxford University Press. xv, 281 p.
21. Tsao, R., *Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols*. Nutrients, 2010. **2**(12): p. 1231-1246.
22. Barzegar, A. and A.A. Moosavi-Movahedi, *Intracellular ROS protection efficiency and free radical-scavenging activity of curcumin*. PLoS One, 2011. **6**(10): p. e26012.

## ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO rs4966035 DEL GEN IGF1R CON EL CRECIMIENTO POSTNATAL TEMPRANO

Rosa Edith Arenas Lugo <sup>1</sup>, Agner Russo Parra Sánchez <sup>1,2</sup>, María Esther Macías Martínez <sup>1</sup>, Marion Velázquez Villafaña <sup>1</sup>, Juan Manuel Malacara <sup>1</sup>, Martha Alicia Hernández González <sup>3</sup>, María Luisa Lazo de la Vega Monroy <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud, Universidad de Guanajuato Campus León.

<sup>2</sup> Universidad del Zulia, Venezuela

<sup>3</sup> HGZ con UMF 21, IMSS, León, Guanajuato

### RESUMEN

Las alteraciones en el crecimiento postnatal se han asociado con resistencia a la insulina, aumento de adiposidad y enfermedades metabólicas durante la vida adulta. El sistema IGF (Insulin-like growth factors) participa de manera sustancial en el crecimiento postnatal. Sin embargo, pocos son los estudios enfocados a identificar polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en este sistema. El objetivo de este estudio es analizar la frecuencia del SNP rs4966035 del gen IGF1R y evaluar su asociación con el crecimiento postnatal temprano en población del Bajío. Se realizó un estudio transversal observacional en una cohorte de 77 infantes de 9-12 meses de edad nacidos a término de embarazos sanos. Se tomaron datos clínicos y somatométricos, se midieron variables antropométricas y se genotipificó el rs4966035 por RFLPs en DNA de células bucales. La variante rs4966035 se encontró con una frecuencia genotípica de GG (28.57%), AG (50.65%) y AA (20.78%) y una frecuencia alélica de G (53.9%) y A (46.1%). Los infantes con el genotipo AA presentaron menor crecimiento ponderal a los 5-7 meses de edad comparados los que presentaron genotipo AG+GG. Estos resultados preliminares sugieren que en el gen IGF1R, el alelo de riesgo A del rs4966035, podría modificar el funcionamiento de IGF1R e influir en el crecimiento postnatal temprano. Este efecto no se observa en los infantes a los 8-12 meses de edad, posiblemente por interacción con otros factores como la introducción de la alimentación sólida.

### INTRODUCCIÓN

El crecimiento es un proceso natural que puede estar influenciado por diversos procesos y factores como los derivados de la nutrición, genéticos, neuronales y hormonales, hasta ahora no se ha podido precisar en qué proporción actúa cada uno por lo que se establece que el crecimiento y desarrollo es resultado de un determinado genotipo dentro de una serie de ambientes. Se sabe que los genes que regulan la velocidad del crecimiento actúan de forma independiente a los que regulan las cifras finales alcanzadas [1].

El crecimiento durante el periodo de desarrollo es de vital importancia ya que el estado de salud en la vida adulta puede estar influenciado directamente por factores que alteren el crecimiento y desarrollo durante esta etapa [2]. Un aumento de la velocidad en la trayectoria del crecimiento a partir de la etapa postnatal influye no solo en factores de riesgo para padecer enfermedades metabólicas, niveles elevados de insulina, índice HOMA (HOMA-IR, Homeostatic Model Assesment of Insulin Resistance) [3] y niveles de triglicéridos [4], también tiene influencia sobre la talla corporal y la composición corporal [5]. Una ganancia excesiva de peso durante los primeros años de vida se ha asociado con mayor riesgo de padecer sobrepeso y obesidad en la etapa adulta [6] [5] [7] [8]. Junto con un riesgo incrementado para padecer sobrepeso y obesidad aumenta el riesgo para presentar enfermedades cardiovasculares que incluyen inflamación sistémica e hipertensión [9] [4] [5].

Para controlar esta velocidad de crecimiento, entre los factores endócrinos de regulación más importantes se encuentran los IGFs (Factores de crecimiento similares a la insulina, por sus siglas en inglés Insulin like growth factors), los cuales son un conjunto de proteínas que antagonizan las

acciones anabólicas de GH (Hormona del crecimiento, por sus siglas en inglés Growth Hormone) ya que son capaces de actuar de forma contraria a la gluconeogénesis y lipólisis estimulada por GH [10], llevan a cabo una acción anabólica y mitogénica [11] y se consideran como miembros de un sistema complejo de señalización para promover el crecimiento [12]. Aunque el hígado es la fuente de producción principal de IGF-I, los IGFs se producen en cada tejido del organismo lo que le confiere un efecto tanto endocrino como autócrino/parácrino. Es ésta última función la que regula en mayor parte el crecimiento. Sin embargo, ambas funciones son importantes para la regulación correcta del crecimiento somático y del desarrollo [13]. El receptor de IGF-1, llamado IGF1R (Por sus siglas en inglés, Insulin like growth factor 1 receptor) se encuentra en diversos tipos celulares y tejidos. Durante la etapa postnatal, la mayoría de las acciones de la GH sobre el crecimiento son reguladas por IGF-I y sus niveles se correlacionan de manera positiva con la ganancia de peso durante esta etapa [11].

Los genes que codifican para IGF-I y su receptor (IGF1R) son candidatos importantes para relacionarse con el peso al nacimiento y el crecimiento durante los comienzos de la etapa postnatal [14]. Por esta razón, la atención se ha centrado en polimorfismos de las regiones promotoras de genes relacionados con IGF el estudio funcional de promotores de genes que están involucrados dentro de las vías de señalización, en busca de nuevos elementos de regulación que puedan alterar la expresión de estos genes [15].

Sin embargo, solo algunas mutaciones se han descrito para IGF1R. Dentro de los casos estudiados, una deficiencia en crecimiento seguida de una rápida ganancia de peso ha sido la característica central de los pacientes que presentan este tipo de alteraciones [22]. Desde la década pasada se han descrito distintos tipos de mutaciones sobre el gen que codifica a IGF1R como causas de un retardo en el crecimiento pre y postnatal debido a una disminución en la sensibilidad de IGF-I [16]. Individuos que presentan un número de copias reducido o aumentado de este receptor muestran un crecimiento postnatal reducido o aumentado respectivamente, por lo que el número de copias de IGF1R puede tener influencia sobre el crecimiento en humanos [17]. Además, placentas de niños que nacieron con peso bajo para edad gestacional (SGA, por sus siglas en inglés Small for Gestational Age) presentan una menor expresión de IGF1R comparados con la expresión en placenta de niños con un peso adecuado para edad gestacional (AGA, por sus siglas en inglés Adequate for Gestational Age) con una consecuente disminución de PDK1 fosforilada, lo cual podría afectar el crecimiento y la función placentarios [18].

En un estudio realizado por Graaff y cols. Se estudiaron 225 SNPs (Por sus siglas en inglés Single Nucleotide Polymorphism) en 10 genes involucrados con el crecimiento y el metabolismo de la glucosa (GH1, GHR, IGF1, IGF1R, STAT5A, STAT5B, MAPK1, MAPK3, PPAR e INS) en 1437 niños europeos, de los cuales 345 pacientes nacieron pequeños para edad gestacional y mantuvieron una estatura corta, 288 quienes mostraron crecimiento compensatorio, 410 con estatura corta idiopática y 394 controles. Dentro de los SNPs estudiados, rs4966035 mostró que su alelo menor A fue significativamente más prevalente entre los SGA, además de estar asociado a talla baja y peso al nacimiento, independientemente de la edad gestacional [19].

Este polimorfismo (rs4966035), se encuentra localizado dentro del gen que codifica para IGF1R en el cromosoma 15, dentro del brazo largo en la región 2, banda 6, sub banda 3 (q26.3) en la región 98.886.233. Se trata de una variante intrónica cuyo alelo ancestral es A. Hasta el momento no se conoce qué función molecular desempeña para explicar su relación con el peso y talla baja al nacimiento. De acuerdo a la base de datos de HAPMAP MEX, la frecuencia del alelo A en población mexicana es de 0.44999999.

Dado a su frecuencia alélica en población mexicana y a su asociación con el crecimiento postnatal temprano en otros grupos de poblaciones, es importante conocer si existe una asociación con el comportamiento del crecimiento en nuestra población e identificar factores genéticos que contribuyan al desarrollo de enfermedades metabólicas.

## PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó un estudio con enfoque cuantitativo, no experimental transversal aprobado previamente por el Comité Institucional de Bioética en la Investigación de la Universidad de Guanajuato (CIBIUG-P-24-2015). Se incluyeron un total de 77 infantes de padres originarios de la ciudad de León, Gto. Dentro de los criterios de inclusión se consideró el rango de edad de 9 a 13 meses, datos de somatometría completa del nacimiento, nacidos a término, productos de embarazos sanos y sin complicaciones. Se excluyeron aquellos infantes con registro de enfermedades crónicas o endócrinas, anomalías genéticas o cromosómicas, síndromes dismórficos, enfermedades psiquiátricas o neurodegenerativas en ellos o en los padres, adoptados, o sin el consentimiento informado. Se obtuvieron datos del nacimiento como peso, talla, perímetro cefálico y edad gestacional de la cartilla nacional de salud y se registraron en la hoja correspondiente de captura de datos. Se utilizó una báscula pediátrica electrónica calibrada marca seca® y un infantómetro de la misma marca para establecer peso y talla. Se realizó la técnica de plicometría tomando medidas de los pliegues subescapular, suprailíaco, bicipital y tricípital, utilizando un plicómetro marca Harpenden®. Los resultados antropométricos se transformaron a Z-score y percentilas utilizando las tablas de referencia de la OMS ajustadas por edad mediante el programa WHO Anthro.

La toma de la muestra se realizó por medio de un raspado bucal con un citobrush y la extracción de material genético fue realizado utilizando Cell Lysis Solution (10mM Tris-HCl pH 8.0, 25 mM EDTA, 0.5% SDS) y proteinasa K (10 uL). Se verificó su integridad por medio de electroforesis en un gel de agarosa al 1%. Para la genotipificación de IGF1R se utilizó la técnica PCR-RFLP donde se utilizó la secuencia de primers para IGF1R en Fwd 5' CTTGTGAAGAGGTTGAGTCTCCT 3' y en Rev 5' TCCCACATCCACCACTAAAAGG 3' de la marca Integrated DNA Technologies IDT® con una temperatura de alineación a 67°. El fragmento amplificado fue de 598 pares de bases (FIG. 1). La restricción se realizó con la enzima Taq I (TthHB8 I) marca invitrogen® siguiendo las recomendaciones del fabricante. Para finalizar, se verificó la reacción de digestión por medio de electroforesis a 80 volts en un gel de agarosa al 3% teñido con bromuro de etidio (FIG. 2). Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de  $\chi^2$  para calcular el equilibrio de Hardy-Weinberg y para la frecuencia de los genotipos entre los grupos. Se tomó como variable dependiente el peso al nacimiento y el crecimiento postnatal y como variable independiente el polimorfismo y se compararon las diferencias entre los genotipos por medio de la prueba de análisis de varianza (ANOVA) y t de student.

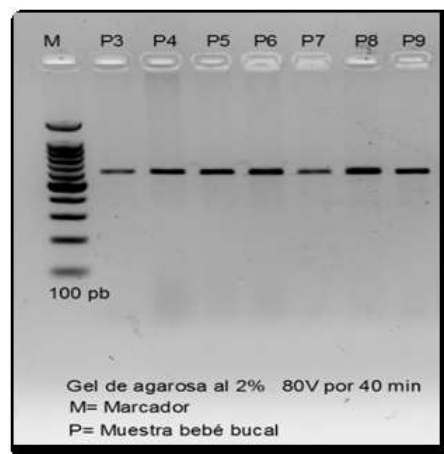




FIG.1. Muestra representativa de un gel de agarosa al 2% mostrando el patrón de PCR en donde el producto amplificado es de 598 pares de bases. Las letras indican el marcador de pares de bases (M), muestras (P3, P4, P5, P6, P7, P8 y P9)

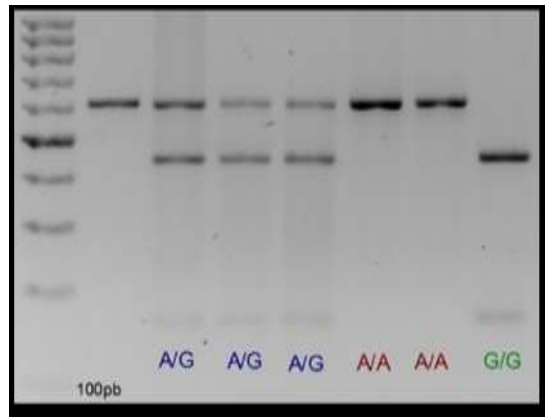


FIG. 2. Muestra representativa del patrón de restricción. Las letras indican el genotipo homocigoto para el alelo AA, homocigoto para el alelo GG o heterocigoto AG correspondiente a la genotipificación del polimorfismo.

**RESULTADOS**

El crecimiento postnatal temprano se evaluó conforme a las diferencias observadas entre el z-score al nacimiento comparados a los 5-7 meses y a los 8-13 meses de edad. La variante rs4966035 se encontró en equilibrio Hardy-Weinberg ( $p > 0.05$ ), con una frecuencia genotípica de GG (28.57%), AG (50.65%) y AA (20.78%) y una frecuencia alélica de G (53.9%) y A (46.1%) (Tabla 1). No se observaron diferencias en peso al nacimiento o peso para la edad a los 5-7 ni a los 8-13 meses entre los genotipos. Sin embargo, los infantes con genotipo AA presentaron menor crecimiento ponderal a los 5-7 meses de edad comparados a los que presentaron genotipo AG+GG (Modelo recesivo) (FIG. 3). Este efecto no se observó en el crecimiento ponderal a los 8-12 meses.

En la tabla 2 se observan las características clínicas de acuerdo a su genotipo. En la tabla 3 se observan los genotipos de acuerdo al grupo de peso para edad gestacional.

Genotipo	AA	AG	GG
Observados	14	26	17
Esperados	12.79	28.42	15.79
Frecuencia H-W	-22.44%	-49.86%	-27.70%
Frecuencia Alélica	A= 54 (47.37%)	G= 60 (52.63%)	P=0.5201

TABLA 1. Se observa el equilibrio Hardy-Weinberg con sus frecuencias genotípicas correspondientes y las frecuencias alélicas.

	AA	AG	GG
Masculino	8	17	8
Femenino	8	22	14
Parto/Cesárea	8/8	27/12	14/8
Edad gestacional	38.6250 ± 1.31022	38.6282 ± 1.54629	38.9545 ± 1.25270
Peso al nacimiento	3.2166 ± 0.45309	3.0959 ± 0.33904	3.1609 ± 0.46984
Talla al nacimiento	50.6154 ± 2.32875	49.3793 ± 4.83598	49.9474 ± 3.09971

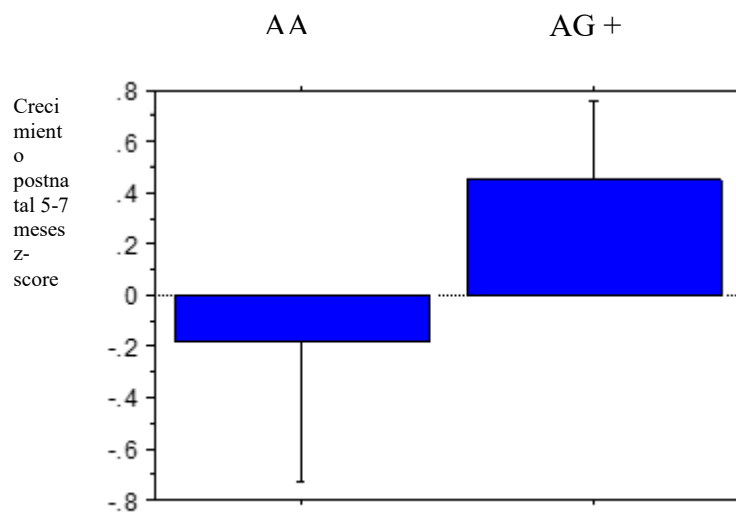


Fig. 3. Infantes con genotipo AA presentaron menor crecimiento ponderal a los 5-7 meses de edad comparados a los que presentaron genotipo AG+GG (p=0.0495).

Peso para la edad al nacimiento (Z-score)	-0.1906 ± 1.01935	-0.4960 ± 0.76186	-0.5068 ± 0.72832
Crecimiento postnatal 5-7 meses (Z-score)	0.506 ± 1.05123	-0.1797 ± 0.90721	-0.2500 ± 0.92376
Diferencia en el crecimiento postnatal 5-7 meses (Z-score)	-0.0125 ± 1.08015	0.3308 ± 0.85247	0.5436 ± 1.18164

TABLA 2. Características clínicas de acuerdo al genotipo.

	SGA	AGA	LGA	TOTAL
GG	2	18	2	22
AA	1	10	5	16
AG	4	32	3	39
TOTAL	7	60	10	77

**CONCLUSIONES.**

Estos resultados preliminares sugieren que variaciones genéticas en el gen IGF1R en particular el alelo de riesgo A del SNP rs4966035, podrían modificar el funcionamiento del receptor IGF1R y por ende influir en el crecimiento postnatal temprano de los infantes sanos. Sin embargo, este efecto no se observa en los infantes a los 8-13 meses de edad, posiblemente por interacción con otros factores como la introducción de la alimentación sólida. Los pacientes con el alelo A, muestran un crecimiento postnatal menor mientras que los pacientes con el alelo G, muestran un crecimiento mayor. Estos resultados concuerdan con lo encontrado en un estudio realizado en población europea donde el alelo A fue significativamente más frecuente entre SGA asociado con menor longitud al nacer ( $p=0.000378$ ) y el peso al nacer (Asociación más débil), independientemente de la edad gestacional. Es necesario aumentar el tamaño de muestra para corroborar esta asociación en nuestra población.

**AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos el apoyo de la Jurisdicción Sanitaria VII de Secretaría de Salud del Estado de Guanajuato y la colaboración técnica de la Enf. Emma Cruz Patlán. Este proyecto fue apoyado por PRODEP UGTO-PTC-443.

**BIBLIOGRAFÍA**

[1] J. A. Gutiérrez Muñiz, A. Berdasco Gómez, M. Esquivel Lauzurique, J. M. Jiménez Hernández,

- E. Posada Lima, J. M. Romero del Sol y M. Rubén Quesada, *Pediatría. Autores Cubanos. Tomo I., Habana: Ciencias Médicas, 2006.*
- [2] B. Heude, A. Forhan, R. Slama, L. Douhaud, S. Bedel, M. J. Saurel-Cubizolles, R. Hankard, O. Thiebaugeorges, M. De Agostini, I. Annesi-Maesano, M. Kaminski y M. A. Charles, «Cohor Profile: The EDEN mother-child cohort on the prenatal and early postnatal determinants of hild health and development.,» *International Journal of Epidemiology*, vol. 0, nº 0, pp. 1-11, 2015.
- [3] G. F. Kerkhof y A. C. Hokken-Koelega, «Rate of neonatal weight gain and effects on adult metabolic health.,» *Nature Reviews*, vol. 8, pp. 689-692, 2012.
- [4] E. Lurbe, C. García-Vicent, M. I. Torro, F. Aguilar y J. Redon, «Associations of Birth Weigh and Postnatal Wiegth Gain with Cardiometabolic Risk Parameters at 5 years of Age.,» *Hypertension*, vol. 63, pp. 1326-1332, 2014.
- [5] L. S. Adair, «Long-Term Consequences of Nutrition and Growth in Early Childhood and Possible Preventive Interventions.,» *Nestlé Nutr Inst Workshop Ser*, pp. 111-120, 2014.
- [6] B. Slagin, S. Norris, P. Prentice, J. M. Pettifor, L. M. Richter, K. K. Ong y D. B. Dunger, «Even transient rapid infancy weight gain is associated with higher BMI in young adults and earlier menarche.,» *International Journal of Obesity*, vol. 39, pp. 939-944, 2015.
- [7] B. Brands, H. Demmelmair y B. Koletzko, «How growth due to infant nutrition influences obesity and later disease risk.,» *Acta Paediatrica*, vol. 103, pp. 578-585, 2014.
- [8] O. Gishti, R. Gaillard, R. Manniesing, M. Abrahamse-Berkeveld, E. M. Van Der Beek, D. H.M.Heppe, E. A.P.Steegers, A. Hofman, L. Duijts, DurmusBusra y V. W.V.Jaddoe, «Fetal and Infant Growth Patterns Associated With Total and Abdominal Fat Distribution in School-Age Children.,» *J. Clin Endocrinol Metab*, vol. 99, pp. 2557-2566, 2014.
- [9] M. R. Skilton, T. R. Sullivan, J. G. Ayer, F. L. Garden, J. A. Harmer, S. R. Leeder, B. G. Toelle, K. Webb, G. B. Mark y D. S. Celermajer, «Weight gain in infancy is associated with carotid extra-medial thickness in later childhood.,» *Atherosclerosis*, vol. 233, pp. 370-374, 2014.
- [10] S. A. Kaplan y P. Cohen, «REVIEW: The Somatomedin Hypothesis 2007: 50 years Later.,» *The Journal of CLinical Endocrinology & Metabolism* , vol. 92, nº 12, pp. 4529-4535, 2007.
- [11] D. F. Yumani, H. N. Lafeber y M. M. Van Weissenbruch, «Dietary proteins and IGF-1 levels in preterm infants: determinants of growth, body composition, and neurodevelepoment.,» *Pediatric Research*, vol. 77, nº 1, pp. 156-163, 2015.
- [12] F. Lupu, J. D. Terwilliger, K. Lee, G. V. Segre y A. Efstratiadis, «Roles of Grwoth Homone and Insulin-Like Growth Factor 1 in Mouse Postnatal Growth.,» *Developmental Biology*, pp. 141-162, 2001.
- [13] I. Netchine, S. Azzi, Y. Le Bouc y M. O. Savage, «IGF1 molecular anomalies demonstrate its critcal role in fetal, postnatal growth and brain development.,» *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 25, pp. 181-190, 2011.
- [14] W. Ester y A. Hokken-Koelega, «Polymorphisms in the IGF-I and IGF1R genes and children born small for gestational age: results of large popultion studies.,» *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 22, nº 3, pp. 415-431, 2008.
- [15] M. Faienza, F. Marzano, A. Ventura, M. Wasniewska, M. Valenzise, A. Valletti, M. Caratozzolo, S. Cornacchia, E. Sbisà, L. Cavallo y A. Tullo, «Regulation of IGF1R gene expression in short children born small for gestational age.,» *Growth Hormone & Research*, vol. 21, pp. 349-355, 2011.
- [16] M. Juanes, G. Guercio, R. Marino, E. Berensztein, D. M. Warman, M. Ciaccio, S. Gil, M. Bailezt, M. A. Rivarola y A. Belgorosky, «Three novel IGF1R mutations in microcephalic patients with prenatal and postnatal growth impairment.,» *Clinical Endocrinology*, vol. 0, pp. 1-8, 2014.
- [17] D. B. Dunger, C. J. Petry y K. K. Ong, «Genetics of Size at Birth.,» *Diabetes Care*, vol. 30, nº 2, pp. S150-S155, 2007.

- [18] M. L. Lazo de la Vega Monroy, M. González Domínguez, L. Daza Benítez y G. Barbosa Sabanero, «Expresión del receptor IGF1R y la vía de Akt en la placenta de recién nacidos pequeños para la edad gestacional.,» *Revista Mexicana de Endocrinología, Metabolismo y Nutrición*, vol. 2, pp. 5-10, 2015.
- [19] L. de Graaff, A. Clark, M. Tauber, M. Ranke, L. Johnston, J. Caliebe, C. Molinas, N. Amin, C. Van Duijn, H. Wollmann, H. Wallaschofski, M. Savage y A. Hokken-Koelega, «Association Analysis of Ten Candidate Genes in a Large Multinational Cohort of Small for Gestational Age Children and Children with Idiopathic Short Stature (NESTEGG study),» *Hormone Research in Paediatrics*, vol. 80, pp. 466-476, 2013.
- [20] D. Cannata, A. Vijayakumar, Y. Fierz, D. LeRoith y BS, «The GH/IGF-1 Axis in Growth and Development: New Insights Derived from Animal Models,» *Advances in Pediatrics*, vol. 57, pp. 331-351, 2010.
- [21] D. B. Dunger, M. L. Ahmed y K. K. Ong, «Early and late weight gain and the timing of puberty,» *Molecular and Cellular Endocrinology*, pp. 140-145, 2006.
- [22] L. Machado de Ponte, I. Izaguirre de Espinoza y R. Santiago, *Nutrición Pediátrica, Venezuela: Panamericana*, 2009.
- [23] G. Pacheco, G. Pernas, M. Mosqueira, C. Juiz de Trogihero, F. Raineri, N. Piazza, Z. Ortiz y A. Cuyul, *Evaluación del crecimiento de niños y niñas. Material de apoyo para equipos de atención primaria de la salud.*, Argentina: Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia. , 2012.
- [24] S. M. Houston, J. M. Holly y E. L. Feldman, *IGF and Nutrition in Health and Disease*, Totowa, New Jersey: Humana Press, 2005.
- [25] K. A. Woods, C. Camacho-Hübner, M. O. Savage y A. J. Clark, «Intrauterine Growth Retardation and Postnatal Growth Failure Associated with Deletion of the Insulin-Like Growth Factor I Gene,» *The New England Journal of Medicine*, vol. 335, nº 18, pp. 1363-1367, 1996.
- [26] T. Ogata, «Review Article Genetics of Human Growth,» *Clin Pediatr Endocrinol*, vol. 15, nº 2, pp. 45-53, 2006.
- [27] T. Wallborn, Wüller, J. Klammt, T. Krus, J. Kratzsh, G. Schmidt, M. Schicke, E. Muller, H. Schmitz Van de Leur, W. Kiess y R. Pfaffle, «A heterozygous Mutation of the Insulin-Like Growth Factor-I Receptor Causes Retention of the Nascent Protein in the Endoplasmic Reticulum and Results in Intrauterine and Postnatal Growth Retardation.,» *Endocrine Research*, vol. 95, nº 5, pp. 2316-2324, 2010.
- [28] H. Ozkan, A. Aydin, N. Demir, T. Erci y A. Büyükgöbüz, «Associations of IGF-I, IGFBP-1 and IGFBP-3 on Intrauterine Growth and Early Catch-Up Growth.,» *Biology of the Neonate*, vol. 76, pp. 274-282, 1999.
- [29] E. Landmann, B. Kollerits, J. G. Kreuder, W. F. Blum, F. Kronenberg y S. Rudloff, «Influence of Polymorphisms in Genes Encoding for Insulin-Like Growth Factor (IGF)-I, Insulin, and IGF-Binding Protein (IGFBP)-3 on IGF-I, IGF-II, and IGFBP-3 Levels in Umbilical Cord Plasma,» *Hormone Research in Pediatrics*, vol. 77, pp. 341-350, 2012.
- [30] M. Harrela, H. Koistinen, M. Lehtovirta, J. Toumilehto, L. Toivanen, M. Koskenvuo, M. Koskenvuo, P. Leinonen, R. Koistinen y M. Seppälä, «Genetic and Environmental Components of Interindividual Variation in Circulating Levels of IGF-I, IGF-II, IGFBP-I and IGFBP-3.,» *The American Society for Clinical Investigation*, vol. 98, nº 11, pp. 2612-2615, 1996.
- [31] J. Mong, M. Ng, G. Guldan, C. Tam, H. Lee, R. Ma, W. So, G. Wong, A. Kong, J. Chan y M. Wayne, «Associations of insulin-like growth factor binding protein 3 gene polymorphisms with IGF-I activity and lipid parameters in adolescents,» *International Journal of Obesity*, vol. 33, pp. 1446-1453, 2009.
- [32] E. Kajantie, «Insulin-Like Growth Factor (IGF)-I, IGF Binding Protein (IGFBP)-3, Phosphoisoforms of IGFBP-1 and Postnatal Growth in Very-Low-Birth-Weight Infants.,» *Hormone Research*, vol. 60, nº 3, pp. 124-130, 2003.

- [33] L. Stigson, A. Kistner, E. Engstrom, P. Magnusson, A. Hellstrom y D. Swolin-Eide, «Bone and fat mass in relation to postnatal levels of insulin-like growth factors in prematurely born children at 4 y of age,» *Pediatric Research*, vol. 75, n° 4, pp. 544-550, 2014.
- [34] I. Cheng, K. DeLellis, C. A. Haiman, L. N. Kolonel, B. E. Henderson, M. I. Freedman y L. Le Marchand, «Genetic Determinants of Circulating Insulin-Like Growth Factor (IGF)-I, IGF Binding Protein (BP)-1, and IGFBP-3 Levels in a Multiethnic Population,» *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 92, n° 9, pp. 3660-3666, 2007.
- [35] U. Sovio, M. Kaakien, I. Tzoulaki, S. Das, A. Ruokonen, A. Pouta, A. Hartikainen, J. Molitor y M.-R. Jarvelin, «How do changes in body mass index in infancy and childhood associate with cardiometabolic profile in adulthood? Findings from the Northern Finland Birth Cohort 1966 Study,» *International Journal of Obesity*, vol. 38, pp. 53-59, 2014.

## HÁBITOS DE ALIMENTACIÓN Y ESTADO NUTRICIONAL EN ESCOLARES DE 6-12 AÑOS DE UNA COLONIA DE ALTA MARGINACIÓN EN HERMOSILLO, SONORA

Espinoza López Armida<sup>1</sup>, Orozco García María Esther<sup>1</sup>, Coña Gastelúm Alma Guadalupe<sup>1</sup>, Parra Vergara Norma Violeta<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Sonora. [armida.espinoza@unison.mx](mailto:armida.espinoza@unison.mx)

### RESUMEN

Los hábitos de alimentación y el estado nutricional no solo afectan a la salud en el presente, sino que determinan el riesgo de contraer en el futuro enfermedades crónicas relacionadas con la alimentación. Este estudio tuvo como objetivo identificar los hábitos alimentarios y el estado nutricional en escolares de 9-12 años de la Escuela Ignacio Salazar Quiroz, en la Colonia Altares del municipio de Hermosillo, Sonora. La población estuvo conformada por 72 niños. Se realizó valoración nutricional por Índice de Masa Corporal para la edad (IMC/E) y Talla para la edad (T/E), y los hábitos alimentarios se evaluaron por el Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA) aplicada a las madres. Los resultados mostraron que 16% de los niños presentaba sobrepeso, y 17% estaba en riesgo de retraso del crecimiento. Se observó que sus alimentos básicos son las tortillas de harina de trigo y frijoles; su consumo de frutas y verduras fue bajo; la mitad de los niños nunca consume pescado, el 49% consume carne de pollo o de res, una vez por semana; existe una tendencia de consumir con mayor frecuencia carnes frías que rojas o blancas; solo la mitad de los escolares consume leche todos los días; su consumo de alimentos altos en grasa y azúcar fue elevado. En general, estos niños no cumplen con la recomendación de una dieta adecuada para su crecimiento y desarrollo. Su alimentación debe ser de alta calidad nutricional, y moderar el consumo de alimentos de alta densidad energética. Es necesario que los niños y sus padres reciban orientación nutricional, y la implementación de programas permanentes de educación nutricional en las escuelas.

### INTRODUCCIÓN

Debido a la influencia que ejerce la alimentación sobre el desarrollo y evolución de las enfermedades<sup>1-4</sup> así como para su prevención y tratamiento, resulta de vital importancia el poder disponer de un buen conocimiento de los hábitos alimentarios de la población. Una alimentación y nutrición adecuada son la base para la supervivencia, la salud y el crecimiento del ser humano. El consumo dietario es uno de los principales determinantes del estado nutricional, pero no es el único. Las estimaciones de la ingesta alimenticia son una medida nutricional si se tiene especial cuidado en la forma en que lo estimamos. El objetivo básico de una evaluación nutricional a través de los Cuestionarios de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA), es conocer lo que la persona investigada consume habitualmente en periodos cortos o largos de tiempo, permite extraer información sobre la influencia de la variabilidad estacional o incluso intersemanal<sup>7</sup>. Los CFCA son capaces de clasificar a los individuos de una población según su consumo lo que permite realizar comparaciones e identificar conductas de alto riesgo y sirve como base para la recomendación de cambios en los hábitos de alimentación. Así también, se puede evidenciar las causas de desordenes nutricionales y poder recomendar algunas alternativas para la solución del problema. En la edad comprendida entre 6 y 12 años, se presenta un pleno desarrollo biológico, físico, psicológico y social, es decir, se producen cambios notables en las magnitudes físicas y en la composición corporal que tiene como base una buena alimentación. Si las necesidades nutricionales presentes en este grupo de edad no son satisfechas, el organismo sufre alteraciones bioquímicas y fisiológicas a las que se les agrega retardo en el crecimiento, alteraciones cognitivas y una menor capacidad física e intelectual. Algunos de los factores que influyen en la alimentación de una comunidad y tal vez uno de los más importante es el factor económico, ya que los alimentos se tienen que comprar y algunos de ellos son costosos o no se tienen los suficientes recursos monetarios para obtenerlos, otro factor es el cultural, la formación de hábitos alimentarios sin duda inicia con los padres, si estos no proporcionan la orientación adecuada de una buena alimentación hacia el menor, ellos por si solos se harán de una dieta de alimentos como frituras,

dulces y refrescos que no cumple con los nutrientes necesarios. Es por esto que se debe informar, por parte de los padres, sobre todo en comunidades donde las familias no orientan a sus hijos la buena costumbre de alimentarse sanamente. El crecimiento durante los años escolares es lento pero uniforme y simultáneo a un aumento constante en la ingesta de alimento. Hay diversas influencias, algunas evidentes y otras sutiles, que determinan el consumo y hábitos alimenticios de los niños. Las principales influencias sobre el consumo alimentario en los años de desarrollo son el ambiente familiar, de los compañeros. Es bien aceptado que los niños desnutridos responden menos, son menos despiertos o activos y muestran una menor conducta exploradora.

El estudio realizado por el Consejo Nacional de Evaluación Política de Desarrollo Social (Coneval, 2015), reportó que el 24.8% de los hermosillenses vive en carencia de acceso a la alimentación, esto hace a estas comunidades vulnerables en problemas de tipo nutricional, es por esto que se hace necesario llevar a cabo un estudio nutricional en la población infantil de las familias de esas comunidades para detectar problemas de índole nutricional, además es una forma de contribuir con la comunidad que se encuentra en pobreza extrema de nuestra localidad.

La Ciudad de Hermosillo, cuenta con 148 comunidades rurales y ejidos de la ciudad donde se concentran más de 45 mil hermosillenses de los cuales 25 mil 700 personas y 3 mil 550 hogares viven en pobreza en la zona urbana de la capital sonorense. Son 37 invasiones las que actualmente existen, siendo la Invasión Altares una de las más afectadas.

### **Objetivo general**

Evaluar el estado nutricional mediante medidas antropométricas y los hábitos de alimentación mediante el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos en niños en edad escolar de la colonia Altares de la Ciudad de Hermosillo, Sonora, México.

### **Objetivos Particulares**

- Realizar un diagnóstico socio-económico de la población en estudio mediante un cuestionario para identificar características generales y factores de riesgo
- Conocer el estado nutricional utilizando medidas antropométricas de peso y talla
- Conocer los hábitos de alimentación utilizando el Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos
- Promover la educación en nutrición a través de talleres y evaluar a los niños con dinámicas y material educativo.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio se realizó en la colonia Altares (el cual es un asentamiento ilegal, y que no cuentan con servicio público) en el Municipio de Hermosillo, Sonora, México. Se realizó un diagnóstico en la comunidad aplicando un cuestionario a 59 hogares para conocer las características generales de vivienda, empleo, salud y educación. También se realizó una invitación a la comunidad para que todos los niños y niñas de edad escolar acudieran a la escuela donde se llevó a cabo la evaluación nutricional.

La población de estudio fue de 250 escolares de los cuales participaron 72 niños (41 niños y 31 niñas) de edades entre los 6 a 12 años que asisten a la Escuela Primaria "A Ignacio Salazar Quiroz" de esta comunidad y que viven en el asentamiento "Altares". Antes de aplicar el Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA), se explicó a la persona responsable del menor o madre o padre de niño el objetivo de la misma. El CFCA consta de 45 ítems por los principales grupos de alimentos como son; lácteos y sus derivados, cereales, frutas y verduras, leguminosas y carnes. Además en el cuestionario se incluyeron alimentos regionales que reflejan el consumo de la población estudiada. Este cuestionario preguntaba sobre el número de veces a la semana con que habitualmente se consumían determinado grupo de alimento. Para la evaluación del estado nutricional se evaluó mediante índices antropométricos construidos a través de las mediciones de peso, tallas y edad, para estas mediciones se utilizaron los procedimientos establecidos en la PROY-NOM-031-SSA2-2014, Para la atención a la salud de la infancia y del manual de procedimientos del Instituto de Salud Pública. Con el peso y talla se determinaron los siguientes índices: Talla para la edad (T/E). Refleja el crecimiento lineal alcanzado en relación con



la edad cronológica y sus déficits. Se relaciona con alteraciones del estado nutricional y la salud a largo plazo. Índice de masa corporal para la edad (IMC/E). Refleja el peso relativo con la talla para cada edad; con adecuada correlación con la grasa corporal. Se calcula con la división del peso sobre la talla<sup>2</sup>. Su interpretación es similar a la mencionada para el peso talla, pero con más precisión. Análisis estadístico. Se presenta el análisis descriptivo de las variables de interés a fin de caracterizar a la población de estudio. La captura de los datos se realizó en hojas de cálculo del programa Excel de Microsoft Office 2007 y el procesamiento de datos se llevó a cabo en el programa SPSS Versión 15 para Windows.

## RESULTADOS

Las características generales obtenidas de un cuestionario aplicado a 59 hogares de la Invasión Altares, realizado como dinámica de acercamiento a la comunidad se encontró que el 19% de las familias tiene un ingreso entre \$700.00 - \$1,100/mensuales para todos sus gastos. El 43% de las familias son dependientes económicamente por la madre y 35% por el padre, 18% ambos y 4% los hijos. Con respecto a los servicios públicos el 57% cuenta con energía eléctrica y 42% no cuenta con servicio de drenaje, por lo cual recurren al uso de fosa séptica, y el 1% de los hogares cuenta con servicio de agua potable. El 69% de las familias compran los víveres semanalmente, 24% diario, 7% quincenalmente. Las enfermedades más frecuente 50% padecen problemas de las vías respiratorias y el 27% son diabéticos diagnosticados y el 10% presentaron alergias. Estos resultados reflejan la necesidad de trabajar con esta comunidad, debido a la problemática que actualmente presentan, ya que es posible encontrar problemas nutricionales entre otros.

Evaluación nutricional. Para conocer la desnutrición actual o pasada se determinó el Índice de Masa Corporal para la Edad (IMC/E), los resultados obtenidos se pueden observar en la Figura 1 donde el 55% del total de los niños/as evaluados presentaron un IMC/E normal, 17% presentaron desnutrición y 28% desde sobrepeso y obesidad. Un estudio realizado en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. en niños de 6 a 10 años de los municipios de Sonora, reportó 39% de sobrepeso-obesidad<sup>12</sup>.

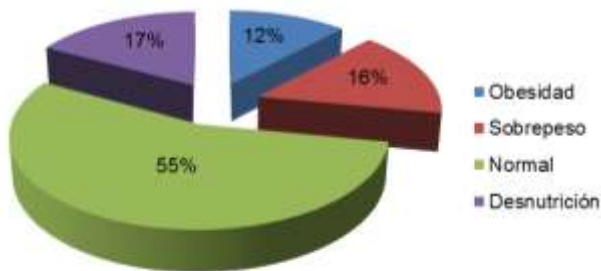


Figura 1. Distribución del indicador antropométrico IMC/E de la población total de escolares.

Para el indicador Talla para la Edad (T/E), este refleja desnutrición crónica presente o pasada, además puede estimar la prevalencia de retardo en el crecimiento, esto se muestra la Figura 2 donde el 79% de los niños/as tuvieron una talla normal para la edad, 4% presentó talla alta y 17% talla baja para la edad. . Igualmente se encontró una diferencia notable con el estudio de Humo y col., (2006) con este mismo indicador, donde el 50% presentó talla normal, 15% talla baja y talla alta 35%. Estos resultados pueden indicar que aquellos niños/as que presentaron T/E baja pudieron tener o tiene un problema de desnutrición debido a la inseguridad alimentaria que viven estas familias que pudo afectar su crecimiento.

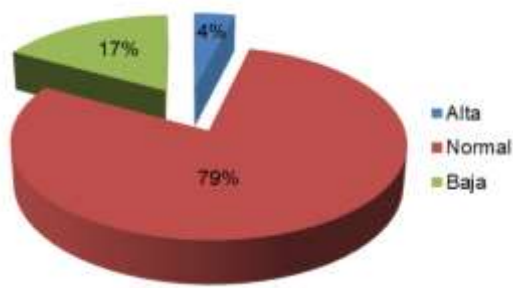


Figura 2. Distribución del indicador antropométrico T/E de la población total de escolares.

Los hábitos de alimentación obtenidos del Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA), se muestran por grupos de alimentos (cereales, frutas y verduras, lácteos y leguminosas y productos de origen animal). La Figura 3 muestra el consumo alimentos del grupo de los cereales; existe un alto consumo de estos productos, la tortilla de harina la consumen diariamente un 61% de la población; y tortilla de maíz un 39 %. En el consumo de pan blanco y pan integral se observó que el 72% de la población consume pan integral una vez a la semana; y un 44% pan blanco. Otros alimentos del grupo de los cereales como el arroz, avena y cereales para desayuno; el arroz es el alimento de mayor consumo 46% lo consume de 2 a 4 veces a la semana, seguido del cereal para el desayuno 40% y avena 38%; mientras que el 33 % de los escolares nunca consume la avena. El grupo de los cereales aporta a la dieta fibra, vitaminas y minerales y principalmente son fuente de energía por los carbohidratos que proporciona.

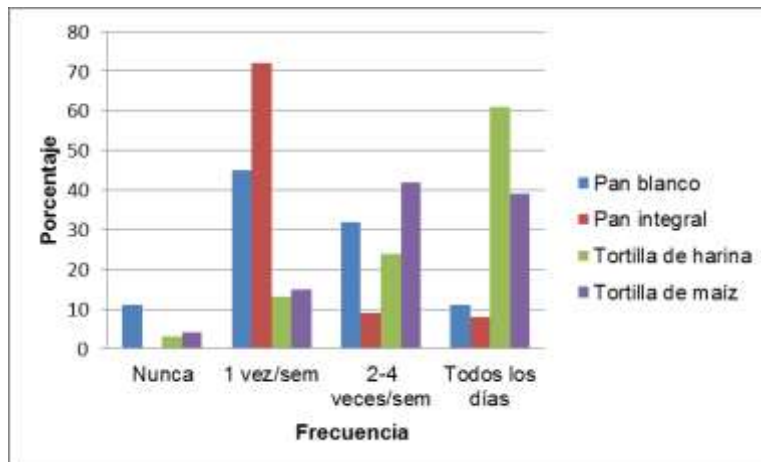


Figura 3. Frecuencia de consumo de alimentos del grupo de los cereales en la población total de escolares.

El consumo de frutas y verduras se puede observar en la Figura 4, más de la mitad de los escolares consumen diariamente verduras usadas como condimento (chile, tomate, cebolla). Para el caso de las verduras como la calabaza, coliflor, zanahoria, lechuga, entre otros se reportó un 24% de consumo diario. Para las frutas y jugos el 49 % de la población estudiada tiene un consumo diario. Este grupo es muy importante que se consuma todos los días por los escolares ya que contienen vitaminas y minerales esenciales que ayudan al crecimiento y desarrollo.

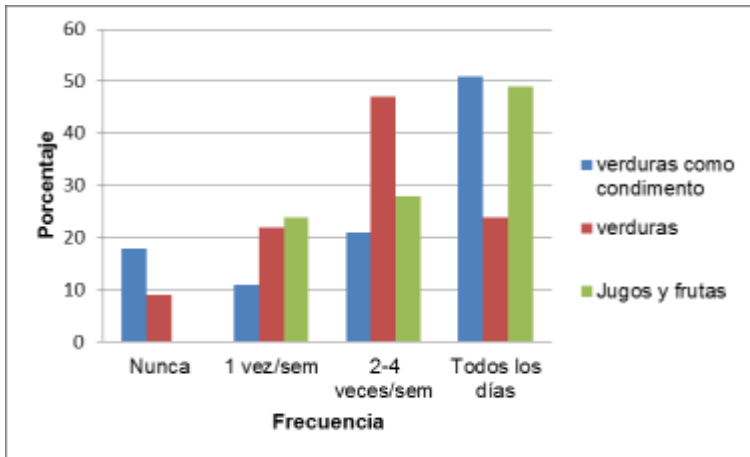


Figura 4. Frecuencia de consumo de alimentos del grupo de las verduras y frutas en la población total de escolares.

En el grupo de las carnes se presenta en la Figura 5, se encontró que el pescado, pollo y carne se consume solo una vez a la semana el 39%, 49% y 40% respectivamente. Este grupo de alimento es de suma importancia en los niños/as ya que aportan proteínas de buena calidad e importante para su buen desarrollo. Sin embargo aproximadamente el 50% de los niños nunca consume pescado, este alimento es muy importante en su alimentación debido a que aporta proteínas y ácidos grasos esenciales del tipo omega-3. En lo que respecta al consumo de carnes frías como, el jamón, bolonia y salchicha los consumen de 2 a 4 veces a la semana aproximadamente el 50% de los escolares, este tipo de alimento se debe de consumir con menos frecuencia debido a que son altos en sodio y grasa.

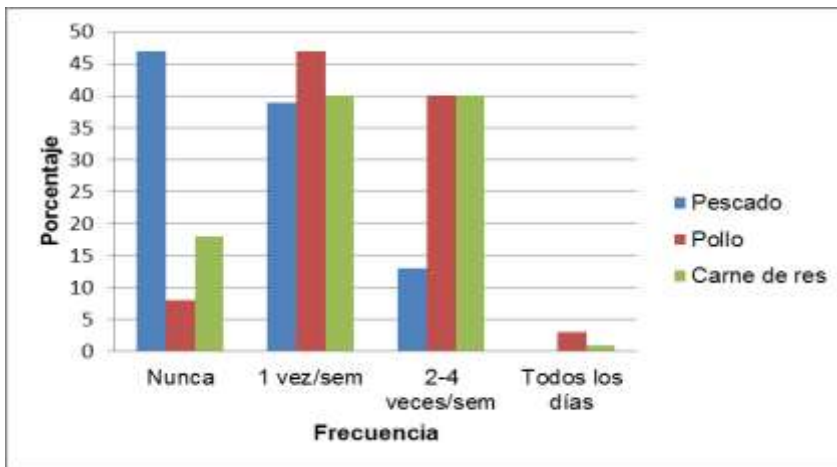


Figura 5. Frecuencia de consumo de alimentos del grupo de productos de origen animal en la población total de escolares.

El consumo de leguminosas se representa en la Figura 6, aproximadamente el 90% de los escolares lo consume todos los días; sin embargo el hábito del consumo de lentejas es muy bajo, la diversidad del consumo de las leguminosas es importante como fuente de proteínas de origen vegetal. Este grupo es fuente importante de fibra soluble, hierro y proteína complementaria en la dieta. El consumo frecuente de frijol se debe a que es un alimento accesible a la comunidad, el

precio es relativamente económico y con esto se cumple un consumo favorable en la dieta de los niños.

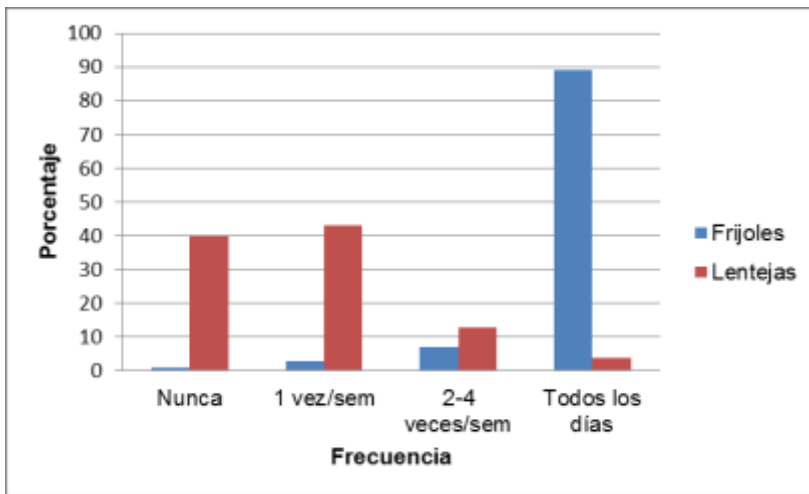


Figura 6. Frecuencia de consumo de alimentos del grupo de las leguminosas en la población total de escolares.

En la Figura 7 se presenta los alimentos consumidos del grupo de los lácteos; la leche lo consume todos los días el 54% de los escolares, su consumo es importante en este grupo de edad ya que proporciona principalmente calcio para mantener la integridad ósea. El menos consumido es el yogur el 42% de los escolares lo consume solo una vez por semana, esto se debe a que la población en general es de bajos recursos y no es de costumbre consumirse con frecuencia, debido a que se cree que este tipo de alimentos es costoso y no es tan importante; el queso mayormente se consume de 2 a 4 veces por semana el 39% de los escolares.

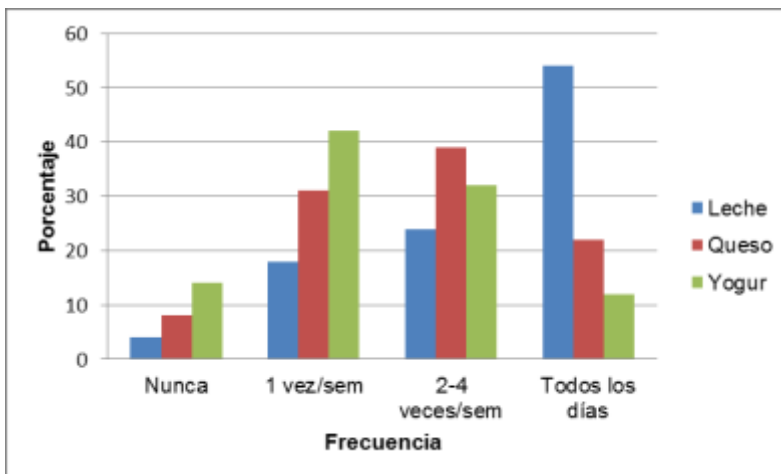


Figura 7. Frecuencia de consumo de alimentos del grupo de los lácteos en la población total de escolares

Los alimentos considerados como de alta densidad energética como los dulces, botanas, refrescos se consideran más perjudiciales para la salud porque no aportan los suficientes nutrientes sino más bien calorías vacías; se observó que más del 50% de los escolares lo consume todos los días

principalmente alimentos de tipo botana seguido de dulces y refrescos. Es común que los niños a esta edad consuman frecuentemente este tipo de alimentos, ya que los padres no imparten la información necesaria para que consuman alimentos nutritivos. Además pueden causar problemas en la salud como: alto nivel de triglicéridos, problemas dentales (caries), entre muchos más. Los alimentos regionales que más consumen los escolares solamente una vez a la semana son la carne asada, nopales y tamales de carne de res.

## CONCLUSIONES

En el presente estudio proporciona información sobre el consumo habitual alimentario y nutricional de la población general. La muestra de escolares que participó comprendía la mayoría de las edades de la población (6 a 12 años), ambos sexos. La participación de los 72 escolares es suficiente para identificar como significativo el consumo habitual alimentario. Otros muchos estudios han aplicado cuestionarios con un número similar<sup>9,10</sup> o inferior de individuos<sup>11</sup> obteniéndose resultados aceptables. Se encontró que la mayoría de los escolares nunca consumen o al menos lo hacen una vez por semana los alimentos del grupo de origen animal como son pollo, res y pescado. Esto a consecuencia de los precios elevados y la impotencia de poder acceder a estos alimentos provocando en los infantes un deterioro en los niveles energéticos necesarios para las actividades diarias, así como de proteínas que el pescado brinda a la dieta. Estos niños también tienen un pobre consumo de verduras como brócoli, zanahorias, papa, coliflor, lechuga, tomate, entre otros, siendo estos alimentos de prioridad en el consumo por los menores escolares ya que contienen vitaminas esenciales que ayudan al buen crecimiento y fortalecimiento de los huesos y son base muy importante para su desarrollo.

Existen algunas leguminosas como lentejas y garbanzo que generalmente nunca se consumen.

Algunos alimentos de consumo moderado a frecuente que aproximadamente la mitad de los escolares consumen con una frecuencia de 2 a 4 veces por semana son los embutidos como el jamón, bolonia y salchicha. Moderadamente se consumen las frutas como plátano, manzana, uva, durazno, ciruela, papaya, mango, sandía, cítricos entre otros.

Los escolares consumen más frecuentemente pan blanco que el pan integral privándose de consumir fibra dietaria que el cuerpo necesita para ayudar a la digestión y la asimilación de los nutrientes.

Los lácteos como la leche es consumido frecuentemente por la mitad de los escolares, lo hacen con la misma frecuencia que dulces y refrescos de cola y sabores.

Los alimentos que muestran mayor consumo son la tortilla de harina y frijoles con resultados superiores al 80% todos los días, Es necesario que el consumo de alimentos varíe y se realice una dieta saludable, variada donde se incluyan la mayoría de los grupos de alimentos representados en el Plato del Bien Comer para una dieta saludable como son frutas y verduras, cereales y leguminosas (como proteínas complementarias) y alimentos de origen animal como los lácteos,(leche, queso y yogur), huevo y carne (res, pollo, pescado). Estos resultados se deben principales a factores de riesgo como son: ignorancia por parte de los padres, la falta de información sobre nutrición, salud e higiene. Por otro lado los resultados obtenidos en este trabajo son de suma utilidad ya que sobre la base de estas se pueden implementar programas de educación nutricional en las escuelas, ya que se encontró un alto porcentaje de niños/as con una dieta pobre en verduras y lácteos que pueden repercutir en una malnutrición y un alto consumo de tortilla de harina, dulces y refrescos que conllevan a problemas nutricionales (sobrepeso, obesidad y desnutrición). Este tipo de investigaciones son básicas para la implementación de programas de educación nutricional, tendientes a mejorar los hábitos de alimentación en niños, donde es posible lograr cambios favorable que a la larga van a beneficiarlos teniendo una mejor calidad de vida. Además con esto se podría también implementar programas de venta de alimentos saludables en las tienditas escolares, y programas gubernamentales de ayuda a comunidades marginadas para mejorar su alimentación. Otro reto importante lo constituye el seguir ampliando la información sobre aspectos alimentarios y nutricionales para las familias con el objeto de prevenir y dar atención en problemas de mala alimentación como los son la desnutrición y la obesidad que últimamente han cobrado gran relevancia en las primeras etapas de la vida<sup>1</sup>. También respecto a los objetivos particulares de este trabajo se realizaron talleres interactivos de educación nutricional; se

aprovechó en el inter del trabajo la celebración de la Revolución Mexicana que terminó en una kermes en la escuela en ese marco se instaló un módulo donde interactivamente participaron los niños de la comunidad Altares y demás asistentes. Se presentó un juego llamado “Lotería de Frutas y Verduras” con material didáctico donde uno tomaba la función de moderador y los niños participaban con una carta donde, al igual que el juego de la lotería. Los niños estaban atentos a observar el dibujo de la fruta o verdura para poder saber si la contenía su carta, explicándoles los beneficios del consumo de ese alimento. El niño que resultaba ganador se hacía acreedor a un premio. Los escolares mostraron un gran interés por este juego donde incluso se tuvo que organizar una fila para que todos los niños tuvieran la oportunidad de participar y aprender a la vez.

## BIBLIOGRAFÍA

1. American Academic of Pediatrics. 2002. Treatment of Overweight Children and adolescents: a new assessment of health practitioners. *Pediatrics*. México. pp. 110:203
2. Camberos C. M. 2008. Globalización y empobrecimiento de la clase media sonorenses. *Revista Universidad de Sonora*. México. pp. 38:41.
3. Cortés F., Enrique Hernández Laos E., Minor M. 2015. Elaboración de una canasta alimentaria para México. Secretaría de Desarrollo Social SEDESOL. México. pp. 7:11.
4. Cuevas Nasu L., Rivera Dommarco J. A., Shamah Levy T., Moreno Macias L. B., Ávila Arcos M. A. 2007. Resultados de Nutrición de la ENSANUT 2006. Instituto Nacional de Salud Pública y Secretaria de Salud en México. México.
5. Frank GC, Nicklas TA, Webber LS, Major C, Miller JF, Berenson GS. 1992. A food frequency questionnaire for adolescents: defining eating patterns. *J Am Diet Assoc*; 92:313-8.
6. Henry Rodríguez M., Lazcano M., Hernández Prado B., Oropeza Abúndez C. 2007. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Resultados por entidad federativa; Sonora. Instituto Nacional de Salud Pública y Secretaria de Salud de México. México.
7. Hernández Prado B., Gasca A. y Col. 2009. Informe de evolución histórica de la situación nutricional de la población y los programas de alimentación, nutrición y abasto en México. Consejo Nacional de Evaluación de la política de Desarrollo Social CONEVAL.
8. Humo V.B.E., Maldonado S.A.D., 2006. Evaluación del estado nutricional de la población de 4 colonias marginadas de Empalme, Sonora. Tesis profesional. Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora México.
9. Ling AM, Horwath C, Parnell W. 1998. Validation of a short food frequency questionnaire to assess consumption of cereal foods, fruit and vegetables in Chinese Singaporeans. *Eur J Clin Nutr*; 52:557-64.
10. Paul DR, Rhodes D, Kramer M, Baer DJ, Rumpler WV. 2005. Validation of a food frequency questionnaire by direct measurement of habitual ad libitum food intake. *Am J Epidemiol*; 162:806-14.
11. Parr CL, Barikmo I, Torheim LE, Ouattara F, Kaloga A, Oshaug A. Validation of the second version of a quantitative food-frequency questionnaire for use in Western Mali. *Public Health Nutr* 2002; 5:769-81.
12. Ramírez E., Grijalva H.M.I., Ponce J.A., Valencia M.E. 2006 Prevalencia de sobrepeso y obesidad en el noroeste de México por tres referencias de índice de masa corporal: diferencias en la clasificación. *Rev ALAN* 56(3).
13. Shamah Levy T, Villalpando Hernández S, Rivera Dommarco J. 2006 Manual de procedimientos para proyectos de nutrición. Centro de Investigación en Nutrición y Salud Instituto Nacional de Salud Pública.
14. Willett WC, Lenart E. 1998. Reproducibility and validity of food frequency questionnaires. En: Willett W, ed. *Nutritional Epidemiology*. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press: 101-47.

## EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA HUMORAL FRENTE A LA VACUNA ANTIINFLUENZA TRIVALENTE TIPOS A Y B VAXIGRIP® EN POBLACIÓN DEL CUCI-UDG

García-González CL<sup>1</sup>, Velázquez-Suarez NY<sup>1</sup>, Mújica-López KI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Análisis Clínicos CUCI-UDG. [karla.mujica@cuci.udg.mx](mailto:karla.mujica@cuci.udg.mx)

### RESUMEN

**OBJETIVO:** Evaluar la respuesta humoral frente a la vacuna antiinfluenza trivalente tipos A y B VAXIGRIP® en población del Centro Universitario de la Ciénega-UDG Ocotlán, Jalisco (CUCI-UDG). **METODOLOGÍA:** Se incluyeron 61 individuos mayores de 18 años de la población del CUCI-UDG para la determinación de parámetros hematológicos (recuento de leucocitos y diferencial) y de la concentración de inmunoglobulinas totales pre y post inmunización con la vacuna antiinfluenza VAXIGRIP®. **RESULTADOS:** Participaron 36 (59%) mujeres y 25 (41%) hombres con un rango de edad de 19-47 años; de los cuáles; 23 (38%), 24 (39%), 9 (15%) y 5 (8%) recibieron por primera, segunda, tercera y/o cuarta o más veces la inmunización, respectivamente. El 100% indicó no ser alérgico a ningún componente de la vacuna, sin embargo, 22 (36%) indicaron tener alergia frente algún tipo de alérgeno como polvo, medicamentos y/o alimentos entre otros y 4 (7%) refirió tener alguna enfermedad. Ningún individuo refirió síntomas días previos a la inmunización y 9 (15%) presentaron cefalea, fiebre, debilidad muscular, fatiga y/o rinorrea post inmunización. Respecto al parámetro hematológico de recuento de leucocitos no se observó diferencia en el valor-promedio obtenido pre (día 0- $7.52 \times 10^3/\text{mm}^3$ ) y post (días 7- $6.99 \times 10^3/\text{mm}^3$  y 14- $6.58 \times 10^3/\text{mm}^3$ ) inmunización, igualmente el recuento diferencia no mostró diferencia en la distribución celular pre y post inmunización. Finalmente, para la determinación de inmunoglobulinas totales se obtuvo los siguientes valores pre (día 0-27.48 mg/ml) y post (días 7-26.66 mg/ml y 14-26.72 mg/ml) inmunización. **CONCLUSIÓN:** La vacuna antiinfluenza trivalente tipos A y B VAXIGRIP® no montó una respuesta inmunológica humoral, lo que puede ser explicado bajo la teoría denominada pecado antigénico original. Sin embargo, es necesario continuar evaluando la respuesta inmunológica innata y adaptativa frente a dicha vacuna en diferentes grupos etarios para poder establecer posibles mecanismos implicados en la protección conferida por la misma.

### INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) constituyen un grupo complejo y heterogéneo de enfermedades ocasionadas por un gran número de agentes causales que afectan algún punto de las vías respiratoria y representan para todos los países un importante problema de salud. En la mayoría de las IRA por virus; el virus respiratorio sincitial (RSV, del inglés; respiratory-syncytial virus), el virus metapneumovirus humano (hMPV, del inglés; human metapneumovirus) y los virus parainfluenza (hPIV, del inglés; parainfluenza viruses) tipo 1, 2 y 3 (familia *Paramixoviridae*) y los virus de la influenza (familia *Orthomyxoviridae*) son la causa más común sin que puedan ser distinguidos clínicamente uno de otro. Dentro de estas IRA el 7% al 15% son causadas por los virus de la influenza y son conocidas como influenza (Korsun N, 2015; Secretaría de Salud, 2014; Pillai, 2014; Vittorio Demicheli y col., 2015).

La influenza es contagiosa, tiene una distribución universal y estacional, se presenta como brotes anuales con preferencia en los meses de inviernos, afecta a todos los grupos de edad, puede presentar alta tasa de morbilidad y mortalidad, es caracterizada por periodos cortos de incubación, fiebre alta y síntomas respiratorios y sistémicos. Causada por los virus de la familia *Orthomyxoviridae* de la cual se conocen los tipos de virus: A, B, C y D (Vittorio Demichel y col., 2015; Nichols & Leduc, 2009).

## TEORÍA

### Influenza:

#### **Agente etiológico**

Los virus de la influenza pueden afectar a las aves y a los mamíferos, incluidos los humanos, el virus de la influenza A afectan a muchas especies, pero la gran mayoría de estos virus circulan entre las aves acuáticas, las aves migratoria son los hospederos naturales que albergan todos los subtipos reconocidos hasta la fecha del virus de la influenza A, sin causarles daño aparente, las cuales excretan los virus a través de las heces, además de que el virus de la influenza A infectan de manera natural a numerosas especies de aves, humanos, cerdos, caballos, ballenas entre otros. El virus de la influenza B y C se mantienen solo en poblaciones humanas, a pesar de que ocasionalmente se aíslan de otros mamíferos. De estos tres tipos son los virus de la influenza A los que presentan mayor variabilidad y también los de principal potencial pandémico, por poseer la capacidad de variar antigénicamente en sus glucoproteínas externa de neuraminidasa (NA) y hemaglutinina (HA) y evadiendo así la inmunidad adquirida por la población, en infecciones previas (The Center for Food Security & Public Health, 2009; Salazar y cols., 2010).

#### **Epidemiología**

Los virus de la influenza son clasificados como estacionales o pandémicos dependiendo de los cambios genéticos que son incorporados año con año y determinan la severidad del desenlace de la enfermedad. Los virus de la influenza A y B causan brotes localizados cada año. Las infecciones causadas por el virus de la influenza C son leve o sin síntomas, cualquiera de la forma de la enfermedad no causa epidemias. Cualquier individuo puede ser infectado con virus de la influenza, y provocar serios problemas a cualquier edad (Vittorio Demicheli, Lubna A Al-Ansary, & Alessandro Rivetti, 2015; Nichols & Leduc, 2009).

De las IRA el 7%-15% son causadas por los virus de la influenza que infectan las vías respiratorias superiores y centrales causando epidemias anuales generalmente en los meses de invierno, caracterizadas por alta tasa de morbilidad y mortalidad. Existen contradicciones entre los términos gripe e influenza, influenza es una enfermedad infecciosa aguda causada por miembros de la familia *Orthomyxoviridae*: virus de la Influenza A, B y C; por otro lado; el término "gripe" es con frecuencia utilizado para cualquier enfermedad respiratoria febril con síntomas sistémicos que pueden ser causados por agentes bacterianos o virales, así como por virus de la influenza, en las pandemias de la influenza que han provocado una elevada mortalidad, se observaron complicaciones que se debieron principalmente a sobreinfecciones bacterianas, en especial neumocócicas, estafilocócicas y por gérmenes gram (-), y/o una hiperrespuesta inflamatoria que causa enfermedad de membrana hialina y síndrome de estrés respiratorio (Secretaría de Salud, 2014; Pillai, 2014; Vittorio Demicheli, Lubna A Al-Ansary, & Alessandro Rivetti, 2015).

#### **Respuesta inmunológica frente al virus de la influenza**

Parte de lo que se conoce acerca de la inmunología en las IRA causadas por los virus de la influenza incluye los mecanismos efectores del sistema inmunológico tanto de respuestas innatas como adaptativas para bloquear y eliminar al virus, así como para recuperarse de la enfermedad (Pillai, 2014; Piñón y col., 2005).

Ante el virus de la influenza se establecen mecanismos efectores provistos por la respuesta innata como excelentes barreras para reconocer y proteger contra él; sin embargo; por la rápida diseminación del virus de un huésped infectado a otros susceptibles la eliminación del virus tiene poco impacto en la transmisión viral. No obstante, un fuerte impacto para evitar una transmisión viral eficiente es la existencia de anticuerpos neutralizantes en la superficie nasal o en suero proporcionados por la respuesta humoral: innata (anticuerpos naturales) y adaptativa (anticuerpos específicos inducidos), además de que éstos pueden prevenir una reinfección (Baumgarth, 2013).



El virus es usualmente eliminado relativamente rápido por un gran número de mecanismos efectores de respuesta innata y adaptativa, que a nivel celular incluyen a monocitos/MAC, NK, NEU, células B antígenos-específico, células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> y células B-1, mientras que a nivel molecular incluyen a la familia de interferones de tipo I (IFNs), receptores de reconocimiento de patrones (PRRs, del inglés; pattern recognition receptors) y citocinas entre otras.

Los IFNs estimulan la expresión de cientos de genes en células vecinas induciendo un estado antiviral que junto con MAC como célula presentadora de antígeno virales contribuye a promover la respuesta inmune adaptativa. Los MAC tienen receptores tipo toll-2 (TLR-2) que cuando son activados inducen la expresión de citocinas proinflamatorias, ecosanoides y otras moléculas coestimuladoras de la respuesta inflamatoria provocando fiebre, anorexia e instruyendo al sistema inmune adaptativo contra el virus en el sitio donde se da la infección (Figura 6) (Baumgarth, 2013; Pillai, 2014; Carrada Bravo, 2011).

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### *Tipo de Estudio*

- Cohorte, longitudinal.

#### ***Descripción de recolección de la muestra y población de estudio***

Durante el mes de febrero del año 2015, con base al Esquema de Vacunación en México y acorde a las recomendaciones del Consejo de Salubridad General; se llevó a cabo la campaña de inmunización contra la influenza 2014 – 2015. Para el presente estudio se obtuvieron un total de 366 muestras de sangre que fueron tomadas de 47 individuos que acudieron al Centro Universitario de la Ciénega y 14 al Centro de Salud de Yahualica, Jalisco. A los cuales se les proporcionó información con las especificaciones necesarias para las tomas de muestras de sangre pre-vacunación y post-vacunación, los voluntarios firmaron la carta de consentimiento informado de acuerdo al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación (anexo 1) y llenaron una encuesta formulario.

El presente trabajo tuvo la finalidad de evaluar la respuesta humoral que se establece frente a la vacuna del virus de la influenza A y B (Vaxigrip®) para lo cual se determinaron parámetros hematológicos (recuento total de leucocitos y conteo diferencial) y cuantificación de inmunoglobulinas totales pre y post inmunización.

### RESULTADOS

Se estudiaron 61 individuos de los cuales se obtuvieron 366 muestras sanguíneas obteniendo los siguientes resultados. Participaron 36 (59%) mujeres y 25 (41%) hombres con un rango de edad de 19-47 años; de los cuáles; 23 (38%), 24 (39%), 9 (15%) y 5 (8%) recibieron por primera, segunda, tercera y/o cuarta o más veces la inmunización, respectivamente. El 100% indicó no ser alérgico a ningún componente de la vacuna, sin embargo, 22 (36%) indicaron tener alergia frente algún tipo de alérgeno como polvo, medicamentos y/o alimentos entre otros y 4 (7%) refirió tener alguna enfermedad. Ningún individuo refirió síntomas días previos a la inmunización y 9 (15%) presentaron cefalea, fiebre, debilidad muscular, fatiga y/o rinorrea post inmunización. Respecto al parámetro hematológico de recuento de leucocitos no se observó diferencia en el valor-promedio obtenido pre (día 0- $7.52 \times 10^3/\text{mm}^3$ ) y post (días 7- $6.99 \times 10^3/\text{mm}^3$  y 14- $6.58 \times 10^3/\text{mm}^3$ ) inmunización, igualmente el recuento diferencia no mostró diferencia en la distribución celular pre y post inmunización. Finalmente, para la determinación de inmunoglobulinas totales se obtuvo los siguientes valores pre (día 0-27.48 mg/ml) y post (días 7-26.66 mg/ml y 14-26.72 mg/ml) inmunización.

## CONCLUSIONES

La vacuna antiinfluenza trivalente tipos A y B vaxigrip® no montó una respuesta inmunológica humoral, lo que puede ser explicado bajo la teoría denominada pecado antigénico original. Sin embargo, es necesario continuar evaluando la respuesta inmunológica innata y adaptativa frente a dicha vacuna en diferentes grupos etarios para poder establecer posibles mecanismos implicados en la protección conferida por la misma.

## BIBLIOGRAFÍA

Baumgarth, N. (2013). How specific is too specific? B-cell responses to viral infections reveal the importance of breadth over depth. *Immunol Rev.*

Carrada Bravo, T. (2011). Influenza humana: Avances recientes en la patogenia e histopatología. Descripción del brote pandémico en México 2009-2010. *Revista Mexicana de Patología clínica* , 58 (2), 60-101.

CDC (2016) *Tipos de Virus de influenza (Influenza estacional)*. Disponible en: <http://espanol.cdc.gov/enes/flu/about/viruses/types.htm> Acceso el 16/10/2016

Nichols, J. E., & Leduc, J. W. (2009). Influenza. *Vaccines for Biodefense and Emerging* , 497 - 499.

Secretaria de Salud. (2014). 2015, Secretaria de Salud Disponible en: [http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/lineamientos/influenza/documento\\_tecnico\\_influenza.pdf](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/lineamientos/influenza/documento_tecnico_influenza.pdf) Acceso el 26/02/2015

The Center for Food Security & Public Health (2009). *The Center for Food Security & Public Health*.

The Center for Food Security & Public Health: Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/influenza.pdf> Acceso el 26/02/2015

Vittorio Demicheli, T., Lubna A Al-Ansary, E., & Alessandro Rivetti, , C. (13 de Marzo de 2015). Vaccines for preventing influenza in healthy adults (Review). *The Cochrane Collaboration*.

## EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTATINAS SOBRE LAS DIMENSIONES DE LA CÁMARA PULPAR

Miriam Lucía Rocha Navarro<sup>1</sup>, Martha Eugenia Fajardo Araujo<sup>2</sup>, Eligio Valera González<sup>3</sup>, Francisco Javier Sánchez Marín<sup>3</sup>, Samantha Irazú González Sánchez<sup>1</sup> y Nathalia Holguin Torres<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Facultad de Odontología, Universidad de la Salle Bajío, A. C.

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias Médicas, Universidad de Guanajuato.

<sup>3</sup>Centro de Investigaciones en Óptica, A. C.

### RESUMEN

Las calcificaciones pulpares son agregados mineralizados que pueden quedar libres en el tejido pupar o adherirse a la pared dentinaria ocasionando una reducción de las dimensiones de la cámara pulpar. En estudios *in vitro* se ha mostrado diferenciación de células pulpares mesenquimales en odontoblastos en medios con distintos tipos de estatinas por lo que el objetivo de este estudio fue comparar las dimensiones de la cámara pulpar entre sujetos tratados con estatinas y un grupo control. Material y métodos: Se realizó un estudio transversal y observacional en 57 hombres de 35 a 55 años de edad. Se formaron dos grupos: 1) Sujetos control y 2) Pacientes tratados con estatinas. Los criterios de inclusión para ambos grupos fueron: Sin bruxismo, recubrimientos pulpares o presencia radiográfica de obturaciones, con un índice aterogénico igual o menor a 4, sin evidencias clínicas de enfermedades autoinmunes ni cáncer, sin diabetes o con menos de 3 años de evolución, con al menos un primer molar o segundo molar permanentes inferiores presentes sin caries de 2° o 3° grado, sin tratamiento con propanolol. Además en el grupo con estatinas se incluyeron pacientes bajo tratamiento previo de 20 mg diarios de Atorvastatina o Simvastatina desde 6 meses y hasta año y medio. Se evaluaron los parámetros clínicos y periodontales y además se realizaron imágenes radiográficas de primeros o segundos molares inferiores para evaluar la dimensión horizontal y vertical de la cámara pulpar. Para el análisis se utilizó la prueba t de Student o o su contraparte no paramétrica U de Mann Whitney y análisis de covarianza. Resultados: Se evaluaron 32 sujetos del grupo control y 25 del grupo tratado con estatinas (8.3±2.6 meses). Veintiuno estaban con tratamiento de atorvastatina y 4 con simvastatina. La edad (45±7 vs 50±5 años, p=0.001) y los niveles de glucosa (101±22 vs 137±43 mg/dL, p=0.00002) fueron significativamente mayores en el grupo con estatinas. No se encontró diferencia entre los parámetros periodontales. La proporción horizontal fue similar en ambos grupos (0.369±0.055 mm vs 0.373±0.0301 mm p=0.70), mientras que la vertical fue significativamente más pequeña en el grupo con estatinas (0.280±0.078mm vs 0.210±0.123 mm p=0.01). Se realizó análisis de covarianza ajustando para la edad y los niveles de glucosa conservándose los mismos resultados. Conclusión: Estos resultados sugieren que el tratamiento con simvastatina o atorvastatina de 20 mg diarios por vía oral, podría reducir la dimensión vertical de la cámara pulpar.

### INTRODUCCIÓN

Las estatinas son fármacos empleados muy comúnmente para reducir los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL), evitando de esta forma la progresión de la enfermedad arterial coronaria, además presentan un modesto efecto sobre las lipoproteínas de alta densidad (HDL), incrementándolo en aproximadamente 5% y disminuyendo las concentraciones de triglicéridos en promedio del 20% (1-3). Tal efecto es producido ya que los inhibidores de reductasa inducen netamente un incremento en los receptores de gran afinidad de LDL aumentando la catabolia fraccionada de LDL y la extracción de sus precursores por parte del hígado desde la sangre (4). El tratamiento con estatinas ha demostrado una reducción en la recurrencia de los eventos cardiovasculares y la mortalidad en pacientes que presentan hipercolesterolemia (5). Estos medicamentos actúan de forma competitiva inhibiendo la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa (1-3), disminuyendo el paso limitante de la síntesis de colesterol

endógeno al regular la conversión de HMG-CoA a mevalonato (6), de esta forma también frenan la síntesis de isoprenoides como la ubiquinona y dolicol provenientes de esta vía disminuyendo la prenilación de proteínas Rho y Rab que median diversos mecanismos en la biología vascular (7). Con este mecanismo de acción se han reportado efectos pleiotrópicos de las estatinas como: Efectos antiinflamatorios, aumento en la angiogénesis e incremento de la formación ósea (6). Este último ha recibido particular atención actualmente. Varios experimentos *in vitro* e *in vivo* con estatinas han asociado sus efectos al incremento en la expresión de la proteína morfogénica de hueso 2 (BMP-2) (8,9). Además otros autores han sugerido que las estatinas inhiben la resorción ósea bloqueando directamente la síntesis del mevalonato en los osteoclastos (10). En estudios periodontales las dos estatinas más estudiadas han sido la atorvastatina y simvastatina. Ambas estatinas han mostrado resultados benéficos similares sobre los parámetros periodontales como la profundidad de la bolsa, la pérdida de inserción clínica (CAL) y la ganancia de hueso alveolar (11-16). Este grupo de investigación, demostró que la atorvastatina disminuye la pérdida de hueso alveolar y la movilidad dental en comparación con un grupo de sujetos con colesterolemia tratados con placebo (11).

Los efectos sobre los niveles de colesterol varían según la estatina empleada. La relación dosis-respuesta de todas las estatinas parece ser curvilínea, en general a un incremento al doble de la dosis habrá una disminución adicional del 6% en los niveles del LDL (17). La atorvastatina es una estatina lipofílica, con acción prolongada, activa por vía oral, y es un potente inhibidor de la enzima reductasa HMG-CoA (17-20). La administración de atorvastatina en dosis de 10 – 80 mg induce una mayor reducción en los niveles plasmáticos del LDL en comparación con otras estatinas como simvastatina, pravastatina, lovastatina, fluvastatina y cerivastatina (21).

Tanto la atorvastatina como la simvastatina son generalmente bien tolerados, la mayoría de los eventos adversos relacionados con ésta son leves y transitorios, siendo los síntomas gastrointestinales los más frecuentes. Con el uso continuo de las estatinas se han reportado aumentos persistentes en las transaminasas séricas y creatinfosfoquinasa (CPK), así como problemas de mialgia y miopatía (22).

Calcificación pulpar: Cuando las células madre mesenquimales (MSC) son cultivadas en condiciones de mineralización, son capaces de secretar una matriz mineralizada que se utiliza como indicación de diferenciación osteogénica (23). Las MSC obtenidas de pulpa dental adulta (DPA) producen una capa mineral homogéneamente repartida en la superficie, mientras que otros tipos de células dentales crean nódulos con áreas de alta densidad o depositan minerales de forma irregular con zonas de acumulaciones de alta densidad (24).

Recientemente se ha reportado un efecto de la simvastatina sobre la diferenciación odontogénica en células madre de la pulpa (25), además promueve la diferenciación odontoblastica y la expresión de factores angiogénicos vía hem oxigenasa-1 en células madre pulpares lo que puede promover a su vez la formación de dentina. Okamoto y col. fueron los primeros en reportar que las estatinas inducen la diferenciación de células madre pulpares en odontoblastos *in vivo* e *in vitro*, acelerando la formación de tejido mineralizado de forma similar a la de BMP-2 (26).

Las calcificaciones pulpares son agregados de fosfato de calcio, carbonato de calcio y fosfato de magnesio, formados en la cámara pulpar o en los conductos radiculares, y pueden adherirse a la pared dentinaria o quedarse libres dentro de la pulpa (25). En el estudio de Fleur Berés y cols. se encontraron niveles altos de zinc en cálculos de la pulpa y la dentina cariada en comparación con la dentina sana así como un incremento de cobre tanto en dentina cariada como en cálculos pulpares (27).

Las calcificaciones de la pulpa se muestran en las radiografías como estructuras radiopacas dentro de la cámara pulpar. Las características radiográficas de la calcificación pulpar varían de calcificaciones discretas a calcificaciones amplias (28). Su etiología no es muy bien conocida aunque se han atribuido a la edad, género, algunas enfermedades sistémicas, caries profundas y restauraciones (27-29).

Existen pocos estudios en donde se refieran las calcificaciones pulpares. En pacientes con enfermedades sistémicas se reportó una prevalencia del 10.41% de calcificación pulpar, en comparación con un grupo control en donde solo se halló un 4.76%. En este mismo estudio su prevalencia fue mayor en los pacientes con problemas cardiovasculares (15.86%) en comparación

con los que presentaban diabetes tipo 2 (7.69%) y enfermedades autoinmunes (7.63%) (30). En un estudio en pacientes con enfermedades cardiovasculares con una edad menor de 55 años, se reportó que el 68.2% tenían calcificaciones de la cámara pulpar en comparación con sujetos sanos, sin embargo este estudio no describe la causa de la asociación (28). Además se ha reportado que los cálculos de la cámara pulpar se relacionan con la presencia de aterosclerosis, ya que se encontraron presentes en el 82% de los pacientes con al menos una estenosis de la arteria coronaria (31). Por otro lado, en un estudio reciente se reportó que existen diferentes grados de calcificación entre género, siendo éste en todos los grupos etarios superiores en las mujeres, además de incrementarse con la edad (32).

Las mineralizaciones en la pulpa dental pueden ser tan extensas que pueden obliterar completamente el conducto radicular. Dado que estas calcificaciones generalmente no causan enfermedad pulpar o síntomas subjetivos, todavía no está claro si son una patología o un hallazgo biológico. Clínicamente las calcificaciones pulpares son signos y no son la causa de una patología (33). Las partículas calcificadas de la pulpa dental pueden presentarse en pulpas sanas y enfermas, incluyendo pulpas de piezas dentales sin erupcionar (28). En un estudio se reportó que la prevalencia de calcificaciones de la cámara pulpar es mayor en órganos dentarios con caries, restauraciones, y restauraciones con caries, en comparación con los dientes intactos; siendo los dientes con restauraciones los más prevalentes (32).

Dimensiones de la cámara pulpar: Existen muy pocos estudios que hayan medido las dimensiones de la cámara pulpar. Recientemente Pettiette y col. reportaron cuatro mediciones de la cámara pulpar; dos en sentido horizontal: la distancia entre las paredes de la cámara en el punto más estrecho y en el mismo nivel a través de toda la corona, y dos en sentido vertical: desde la porción más baja del techo pulpar hasta el piso de la cámara y la misma medida hasta la furca (34). Por otra parte, Khojastepour y col. realizaron medidas radiográficas de los primeros molares superiores e inferiores incluyendo 9 puntos de referencia: distancia entre cuernos pulpares, distancia entre paredes a la mitad de la cámara pulpar, distancia entre orificios, distancia entre la cúspide mesial y su cuerno pulpar, distancia entre la cúspide distal y su cuerno pulpar, la altura de la cámara pulpar, distancia entre el piso de la cámara a la furcación y la distancia entre las cúspides a la furcación (28). Mientras que otros estudios han medido la distancia entre el piso de la cámara pulpar y la furcación (33,35).

En la actualidad existen escasas investigaciones que relacionen el uso de tratamientos sistémicos con el incremento de calcificación en tejidos duros dentales. En una investigación reciente se reportó actividad odontoblástica y diferenciación de células madre en la pulpa dental relacionadas a medicamentos usados para alteraciones metabólicas como las dislipidemias. En este estudio se reportó una reducción en la altura de la cámara pulpar en pacientes con tratamiento de estatinas en comparación con sujetos sin tratamiento de estatinas. Sin embargo los autores no aclaran el tipo de estatinas que utilizaban los participantes, si presentaban alguna patología como enfermedad cardiovascular, además de incluir pacientes de 60 años en adelante (34). Por lo anterior es importante corroborar si el uso de estatinas como la atorvastatina y la simvastatina, que se emplea frecuentemente en nuestro medio, puede inducir a la formación de calcificación pulpar.

### **maTERiAles y métodos**

Tipo de estudio: Este estudio se llevó a cabo de manera transversal, observacional y cegado.

Grupos de estudio: Sujetos masculinos de 35 a 55 años de edad que se reclutaron de los servicios de salud del estado de Guanajuato (Centros de Salud y del Hospital General de León) y mediante anuncios públicos en la ciudad de León, Guanajuato.

32 sujetos sanos de acuerdo a su historia clínica (grupo control).

25 sujetos bajo tratamiento con estatinas (grupo de estudio)

Criterios de inclusión para el grupo de estudio: Hombres de 35 a 55 años de edad; Que se encuentren bajo tratamiento de 20 mg diarios de atorvastatina o simvastatina desde 6 meses y hasta año y medio antes de la toma de radiografía; Que no se encuentren datos de bruxismo, recubrimientos pulpares o presencia radiográfica de obturaciones; Con un índice aterogénico igual o menor a 4; Sin diagnóstico de enfermedades autoinmunes (esclerosis múltiple, enfermedad de

Chron, etc.), cáncer ni diabetes de más de 3 años de evolución; Sin tratamiento con propranolol y; Con al menos un primer molar o segundo molar permanentes inferiores presentes sin caris de 2° o 3° grado. Criterios de inclusión para el grupo control: Los mismos que para el grupo de estudio solo que sin tratamiento con estatinas.

Tamaño de la muestra: El cálculo del tamaño de la muestra se realizó mediante la fórmula indicada para estudios cuyo objetivo es comparar medias (36). El cálculo se hizo en base a la variable de las dimensiones de la cámara pulpar (34), dando como resultado 15.8 sujetos por grupo, con un poder del 80%.

Evaluación de parámetros clínicos: Se tomaron muestras sanguíneas en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Departamento de Ciencias Médicas de la Universidad de Guanajuato por medio de punción venosa con el fin de evaluar los niveles de glucosa y perfil de lípidos y se realizó una historia clínica odontológica para evaluar los parámetros periodontales los cuales incluyeron la profundidad del surco gingival y la pérdida de inserción gingival clínica mediante la valoración de la recesión gingival con respecto del nivel cervical de las piezas dentarias medido en milímetros por medio de sonda periodontal y la movilidad dental evaluando el nivel por medio de desplazamiento en sentido buco-vestibular, mesio-distal y vertical.

Evaluación de parámetros radiográficos: Se obtuvieron radiografías de primeros o segundos molares inferiores mediante sensores digitales en la Facultad de Odontología de la Universidad de la Salle. En radiografías que presenten ambas piezas dentales se seleccionara aquella en la que se puedan realizar mejor las mediciones. La evaluación radiográfica fue realizada por un mismo investigador cegado a qué grupo pertenece el paciente. Las imágenes fueron evaluadas para conseguir las medidas de la cámara pulpar mediante longitudes milimétricas y en pixeles en sentido apico-oclusal y mesio-bucal. Las medidas que se obtuvieron de las imágenes radiográficas corresponden a 4 líneas diferentes: a) línea mesio-distal dentro de la cámara pulpar en su porción más estrecha, b) línea mesio-distal en la porción más estrecha de la cámara pulpar atravesando toda la corona, c) línea ocluso-apical dentro de la cámara pulpar desde el punto más bajo del techo hasta el punto más alto del piso y d) línea ocluso-apical al mismo nivel continuándola hasta la furca. Las dimensiones de la pulpa se calcularon como proporciones de  $a/b$  y  $c/d$  para determinar las posibles reducciones de las dimensiones de la cámara pulpar entre grupos. Las imágenes digitales se analizaron con un programa de ordenador para medir distancias y atenuación de los rayos X. Las imágenes fueron analizadas mediante 2 métodos de medición diferentes: milímetros y los pixeles en unidades. Cuando fue necesario las imágenes dentales se mejoraron mediante un algoritmo lineal para evitar cambios inesperados en los datos visuales originales.

Consideraciones éticas: El proyecto fue aprobado por el Comité Institucional de Bioética en la Universidad de Guanajuato con el núm. de registro CIBIUG-A-06-2015, por el Comité de Investigación del Hospital General de León con el núm. de registro GTSSA002101-370, y por el Comité Local de Investigación de la Jurisdicción Sanitaria VII de la Secretaría de Salud del Estado de Guanajuato con núm. de registro JS7-05-280715.

Análisis estadísticos: Se llevaron a cabo análisis estadísticos descriptivos de las variables demográficas. Se analizó la normalidad de la distribución de los datos en base a la prueba de Lilliefors. Para analizar las diferencias entre los grupos se utilizó la prueba *t de Student* o su contraparte no paramétrica de Mann Whitney. Se utilizó el paquete estadístico STATISTICA 7 (StatSoft, Inc.) y se consideró el valor de  $p < 0.05$  como significativo.

## RESULTADOS

Se evaluaron un total de 57 sujetos de los cuales 32 fueron del grupo control y 25 del grupo de estudio en el que 21 estaban con tratamiento de atorvastatina y 4 con simvastatina de 20 mg / día. En la tabla 1 se muestran las características clínicas por grupo las cuales mostraron una diferencia significativa tanto en la edad ( $p=0.001$ ) como en los niveles de glucosa ( $p=0.00002$ ) entre los grupos, mientras que el resto de las variables fueron similares. El tiempo de evolución de la Diabetes Mellitus fue de  $0.2\pm 0$  años del grupo control y  $1.8\pm 0.8$  años del grupo de estudio. El tiempo de tratamiento con estatinas en el grupo de estudio fue de  $8.3\pm 2.6$  meses.

Tabla 1. Características clínicas de los participantes.

Variable	Grupo Control	Grupo de Estudio	t / Z	P
	Media ± DE n = 32	Media ± DE n = 25		
Edad (años)	45 ± 7	50 ± 5	-3.1	0.001
Glucosa (mg/dL)	101 ± 22	137 ± 43	-4.2	0.00002
Triglicéridos (mg/dL)	229 ± 168	213 ± 104	-0.5	0.6
Colesterol (mg/dL)	214 ± 32	195 ± 47	1.7	0.08
HDL (mg/dL)	57 ± 6	59 ± 7	-0.6	0.5
LDL (mg/dL)	115 ± 33	94 ± 37	2.3	0.03
VLDL (mg/dL)	46 ± 34	43 ± 21	-0.5	0.6

En los parámetros periodontales no se observó una diferencia significativa en la profundidad del surco periodontal como en el sangrado al sondeo en el grupo control a diferencia de la recesión marginal, inserción clínica y movilidad dental en las que se encontró una tendencia mayor en el grupo de estudio. A pesar de estas tendencias no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

La tabla 2 muestra las mediciones radiográficas en las que se obtuvieron tanto las líneas extra-camerales horizontales (línea B) como las intra-camerales (línea A) que se mantuvieron sin diferencia significativa entre el grupo control y el de estudio ( $p=0.1$  y  $0.6$ , respectivamente). Por otra parte se encontró diferencia significativa ( $p=0.003$ ) entre los grupos con respecto de la línea interna vertical (línea C) sin observarse cambios en la línea externa vertical (línea D).

Tabla 2. Dimensiones radiográficas

Variable	Grupo Control	Grupo de Estudio	t / Z	P
	Media ± DE n = 32	Media ± DE n = 25		
Línea A (mm)	3.8286 ± 0.6920	3.9506 ± 0.4172	0.5	0.6
Línea B (mm)	10.3409 ± 0.6171	10.5813 ± 0.7394	-1.3	0.1
Línea C (mm)	1.0865 ± 0.3482	0.7870 ± 0.6164	2.9	0.003
Línea D (mm)	3.8755 ± 0.6974	3.7485 ± 1.2811	0.5	0.6
Prop. Horizontal (mm)	0.3690 ± 0.0550	0.3733 ± 0.0301	-0.4	0.7
Prop. Vertical (mm)	0.2801 ± 0.0787	0.2102 ± 0.1231	2.5	0.01

Finalmente se realizó un sub-análisis entre los sujetos que tomaban estatinas dividiéndolos en dos grupos: con ( $n=13$ ) y sin diabetes mellitus tipo 2 ( $n=12$ ). Se introdujeron como covariables la edad y los niveles de glucosa. No encontrándose diferencias entre los grupos. Por lo que la inclusión de pacientes diabéticos no modificó la diferencia significativa encontrada en la distancia vertical.

## CONCLUSIONES

El tratamiento vía oral con Simvastatina o Atorvastatina de 20 mg / día podrían reducir la dimensión vertical de la cámara pulpar en hombres, independientemente de la edad y los niveles de glucosa

## BIBLIOGRAFÍA

1. Chinwong D, Patumanond J, Chinwong S, et al. Statin therapy in patients with acute coronary syndrome: low-density lipoprotein cholesterol goal attainment and effect of statin potency. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2015; 11:127–136.
2. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*. 2004; 110:227–239.

3. Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J*. 2011; 32:1769–1818.
4. Flores J, Armijo JA, Mediavilla A, et al. *Farmacología humana* 4.ª ed. Masson 2003; 55:972–976.
5. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective metaanalysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005; 366:1267-1278.
6. Fernandes R, Oliveira T, Moreno L, et al. Atorvastatin decreases bone loss, inflammation, and oxidative stress in experimental periodontitis. *Plos One*. 2013; 8:1-7.
7. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ, et al. *Farmacología básica y clínica* 11ª ed. McGraw-Hill. 2009; 35:612–614.
8. Horiuchi N and Maeda T. Statins and bone metabolism. *Oral Diseases*. 2006; 12: 85-101
9. Maeda T, Matsunuma A, Kawane T, Horiuchi N. Simvastatin promotes osteoblast differentiation and mineralization in MC3T3-E1 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 280: 874-877.
10. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science*. 1999; 286: 1946-1949.
11. Fajardo ME, Rocha ML, Sánchez-Marin FJ, Espinosa-Chávez EJ. Effect of atorvastatin on chronic periodontitis: a randomized pilot study. *J Clin Periodontol*. 2010; 37: 1016-1022.
12. Staal A, Frith JC, French MH, Swartz J, Gungör T, Harrity TW, Tamasi J, Rogers MJ, Feyen JH. The ability of statins to inhibit bone resorption is directly related to their inhibitory effect on HMG-CoA reductase activity. *J Bone Miner Res*. 2003; 18: 88-96.
13. Pradeep AR, Rao NS, Bajaj P, Kumari M. Efficacy of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis: a randomized double-masked controlled clinical trial. *J Periodontol*. 2013; 84: 24-31.
14. Seto H, Ohba H, Tokunaga K, Hama H, Horibe M, Nagata T. Topical administration of simvastatin recovers alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res*. 2008; 43: 261-267.
15. Pradeep AR, Kumari M, Rao NS, Martande SS, Naik SB. Clinical efficacy of subgingivally delivered 1.2% atorvastatin in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol*. 2013; 84: 871-879.
16. Balli U, Keles GC, Cetinkaya BO, Mercan U, Ayas B, Erdogan D. Assessment of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9 in the periodontium of rats treated with atorvastatin. *J Periodontol*. 2014; 85: 178-187.
17. Aguirre J, García-Valdecasas G, Castillo P, Herrera I., et al. Estatinas: potencia, relación coste-efectividad. *Estudio comparativo SEMERGEN* 2004; 30:142-146.
18. Nassar CA, Battistetti GD, Nahsan FP, Olegário J, Marconato J, Marin CF, Faccioni DM, da Costa KF, Kottwitz LB, Nassar PO. Evaluation of the effect of simvastatin on the progression of alveolar bone loss in experimental periodontitis--an animal study. *J Int Acad Periodontol*. 2014; 16: 2-7.
19. Law MR, Wald NJ, Rudnicka AR. Quantifying effect of statins on low density, lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease and stroke: systematic review and metaanalysis. *BMJ*. 2003; 326:1423-1432.
20. Malinowski JM. Atorvastatin: a hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor. *Am J Health Syst Pharm*. 1998; 55: 2253-2267.
21. LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, Shear C, Barter P, Fruchart JC, Gotto AM, Greten H, Kastelein JJ, Shepherd J, Wenger NK. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *N Engl J Med*. 2005; 352: 1425-1435.
22. Helin-Salmivaara A, Lavikainen P, Aarnio E, Huupponen R, Korhonen MJ. Sequential cohort design applying propensity score matching to analyze the comparative effectiveness of atorvastatin and simvastatin in preventing cardiovascular events. *PLoS One*. 2014; 9: e90325.



23. Ajlan SA, Ashri NY, Aldahmash AM et al. Osteogenic differentiation of dental pulp stem cells under the influence of three different materials. *BMC Oral Health*. 2015; 15:132 – 142.
24. Volponi AA, Gentleman E, Fatscher R et al. Composition of mineral produced by dental mesenchymal stem cells. *JDR*. 2015; 94:1568 – 1574.
25. Min K, Le Y, Hong S, et al. simvastatin promotes odontoblastic differentiation and expression of angiogenic factors via heme oxygenase -1 in primary cultured human dental pulp cells. *J Endod* 2010; 36: 447-452.
26. Okamoto Y, Sonoyama W, Ono M, et al. Simvastatin induces the odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells in vitro and in vivo. *J Endod* 2009; 35: 367-372.
27. Berés F, Isaac J, Mouton L, et al. Comparative Physicochemical Analysis of Pulp Stone and Dentin. *JOE*. 2015; 15:132 – 142.
28. Khojastepour L, Bronoosh P, Khosropanah, et al. Can Dental Pulp Calcification Predict the Risk of Ischemic Cardiovascular Disease?. *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences* 2013; 10:456 – 460.
29. McPherson R, Angus C, Murray P, et al. Efficacy of atorvastatin in achieving NCEP low-density lipoprotein targets in women with severe dyslipidemia and cardiovascular disease. *American Journal Heart*. 2001; 141, 949-956.
30. Nayak M, Kumar J, Prasad LK. A radiographic correlation between systemic disorders and pulp stones. *Indian Journal of Dental Research*. 2010; 21: 369-373.
31. Ezoddini-Ardakani F, Namayandeh SM, Sadr-Bafghi SM, et al. Association of pulp stones with coronary artery stenosis. *Community Dent Health*. 2011; 28: 305-307.
32. Peña G, Caram J. Prevalencia de calcificaciones pulpaes en primeros molares en función del género, edad y ubicación. *Facultad de Odontología Uncuyo*. 2013; 2:11-17.
33. Ngeow WC, Thong YL. Gaining access through a calcified pulp chamber: A clinical challenge. *Int Endod J*. 1998; 31:367–371.
34. Pettitte M, Zhong S, Moretti A, et al. Potential correlation between statins and pulp chamber calcification. *J Endod*. 2013; 39:1119-1123.
35. Horsley SH, Beckstrom B, Clark SJ, Scheetz JP, Khan Z, Farman AG. Prevalence of carotid and pulp calcifications: a correlation using digital panoramic radiographs. *Int J Comput Assist Radiol Surg*. 2009; 4:169-173.
36. Velasco V, Martinez V, Roiz J, et al. Muestreo y tamaño de muestra. Una guía práctica para personal de salud que realiza investigación. *e-libro.net*. 2003; 47-51.

## MÁSCARAS ARTESANALES DE LA FIESTA MAZAHUA: *XITA CORPUS*

Guadalupe Cruz-Pauseno<sup>1</sup> y María Teresa Núñez-Cardona<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco

### RESUMEN

México se caracteriza por su riqueza cultural y se ve reflejada en tradiciones ancestrales como la fiesta *Xita Corpus*, que se festeja el primer jueves de *Corpus* en el municipio de Temascalcingo, que está ubicado a más de 150 kilómetros de la Ciudad de México. Esta tradición, se remonta a la época prehispánica y los pobladores relatan que surgió a partir de una fuerte sequía, por lo que los residentes imploraban a los dioses por la llegada de las lluvias mediante gritos, uso de máscaras y vestimentas para llamar la atención de sus deidades. Después de la conquista española los cultos católicos de *Corpus Christi* fueron incorporados con éxito por los indígenas ya que la fecha coincidía con el ciclo agrícola, de manera que la tradición indígena se fortaleció al fusionarse con la celebración *Corpus Christi*. Los atuendos que utilizan para esta celebración son máscaras grandes que evidencian senilidad con pliegues articulados, orejas y mentón que sobresalen del rostro; barbas y cabellos prolongados. Esta indumentaria es elaborada artesanalmente a base de troncos del maguey, hojas de maíz, ixtle y pirul, confeccionada por indígenas otomíes y mazahuas. Algunos artesanos emplean diferentes herramientas, que van desde sólo un cuchillo, un taladro y una lima, pero hay quienes utilizan herramientas más completas para tallar una sola pieza con añadiduras detalladas en la máscara. Los disfraces son complementados con ropa vieja, cascabeles, cajas rústicas hechas con tablas delgadas (huacal), canastos y metales, que llaman la atención de la concurrencia. Actualmente, la finalidad de la fiesta *Xita Corpus* es la invocación de la lluvia para asegurar las cosechas de los lugareños. El objetivo de este trabajo es dar a conocer una de las muchas tradiciones que tiene Temascalcingo (Estado de México); la autenticidad y los elementos naturales propios de la zona, de los cuales aprovechan para el confeccionamiento de los atuendos utilizados para la celebración de *Corpus Christi*.

### INTRODUCCIÓN

Etimológicamente la palabra persona, proviene del término griego “*prosopon*”, máscara utilizada por los actores del teatro griego, complementándose más tarde como *prosopon*-máscara, significando lo mismo que *prosopon*-rostro: lo que se presenta a la vista de los otros, frente a las partes tapadas del cuerpo y la expresión “*máscara*” como aquello que oculta esa singularidad, aquello que lo remite a una categoría, a un estereotipo, que corre el riesgo de ser intercambiable, borrrable, prescindible (Betancur, 2010).

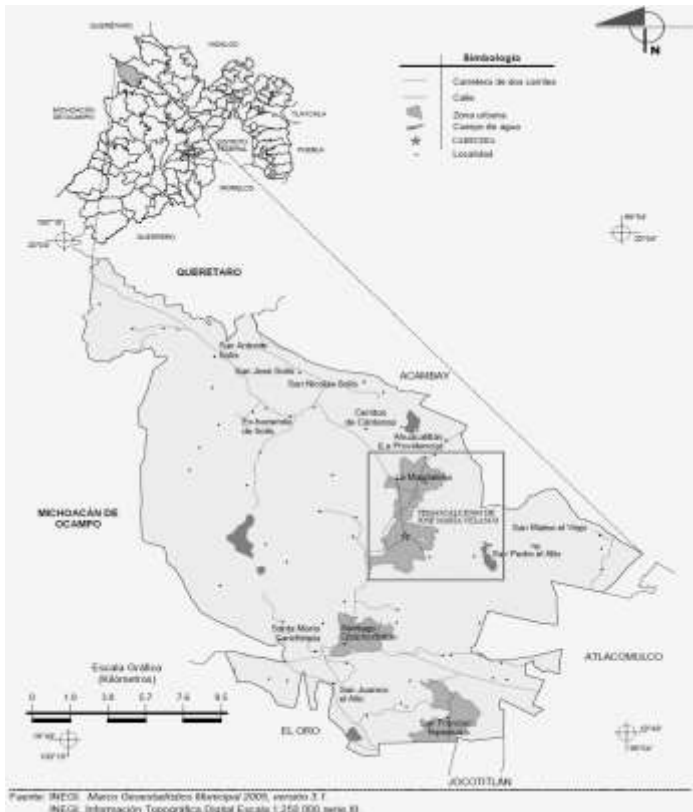
Uno de los elementos significativos de la fiesta mazahua: *Xita Corpus*, son las máscaras artesanales que utilizan los pobladores de la zona de Temascalcingo. La palabra “*Xita*” está compuesta por el lexema *xi* que significa “piel” al mismo tiempo que “envejecimiento” y el lexema *ta*, “*principio masculino*”; por tanto, *Xita* es empleado para designar al abuelo o anciano (Galinié 1990, citado en Zaldívar 2014).

Esta celebración convertida en tradición, se remonta a la época prehispánica, y pobladores autóctonos relatan que surge a partir de la experiencia de una fuerte sequía, esta situación motiva a los residentes a implorar a los dioses por la llegada de las lluvias, mediante gritos, el uso de máscaras y vestimentas para llamar la atención; por otro lado, algunos cronistas destacan que la fiesta de *Corpus Christi* inició en 1524, con la llegada de los primeros franciscanos mencionando a fray Toribio de Benavente, Jerónimo de Mendieta y Juan de Torquemada, quienes describieron esta festividad en el siglo XVI (Fernández y Martínez 2002). Después de la conquista española los cultos católicos de *Corpus Christi* fueron adoptados fácilmente por los indígenas porque la fecha

coincidía con el ciclo agrícola y se fortaleció la tradición de esta festividad gracias a la fusión de ambas creencias.

*Temascalcingo y la fiesta de Xita Corpus (Otomí-Mazahua)*

El lugar donde se realiza la festividad de *Xita Corpus* es Temascalcingo y el origen de esta palabra proviene de “*Temazcal*” o “*baño de vapor*” (Lina, 2010), lugar donde nació el pintor paisajista José María Velasco. Este municipio del Estado de México, está ubicado entre los 2,300-3,300 msnm (Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, 2009), y a 150 km de distancia de la Ciudad de México, colindando al Norte con el municipio de Acambay y al Sur con los municipios de El Oro y Atlacomulco (figura 1).



**Figura 1.** Ubicación geográfica de Temascalcingo y las comunidades aledañas (INEGI, 2005).

*Pueblo Indígena Mazahua*

La palabra mazahua, significa “*gente del venado*”, sus raíces provienen de la fusión racial y cultural de los asentamientos tolteca-chichimecas. La población Mazahua constituye uno de los grupos étnicos más numerosos del Estado de México; están asentados en los municipios de San Felipe del Progreso, Ixtlahuaca y Atlacomulco (CEDIPIEM, 2015), sin embargo existen otros grupos minoritarios que habitan la zona de Santiago Coachochitlán y San Pedro el Alto que influyen marcadamente en los habitantes de Temascalcingo.

*Pueblo Indígena Otomí*

La palabra otomí, es de origen nahuatl que significa: “*Flechador de pájaros*”. Los otomíes o hñähñu aparecen como un pueblo ligado a los Olmecas. Antes de los Toltecas, fueron los primeros

pobladores en el Valle de Tula (CEDIPIEM, 2015). Por otro lado el pueblo Otomí se le atribuye la palabra “*Xita*”, que significa “abuelos” (Questa y Utrillo 2006).

#### *Fiesta Mazahua-Otomí*

En el municipio de los “Temazcales”, se fusionan los mundos Mazahua-Otomí, para llevar a cabo la fiesta tradicional *Xita Corpus* o *Viejos de Corpus*, celebrada el primer jueves del mes de junio. Esta tradición prehispánica tiene lugar en el centro del pueblo, en la parroquia de San Miguel Arcángel, mazahuas y otomíes provenientes de los barrios: Bonshó, Maro, Corona, el Calvario, La Magdalena, Andaró, El Puente, Boqui, Puruahua, El rodeo, Ahuacatitlan y Cruz Blanca danzan e invocan a la lluvia mediante atuendos de grandes máscaras que evidencian senilidad con pliegues articulados, orejas y mentón que sobresalen del rostro, barbas y cabellos prolongados (figura 2).



**Figura 2.** Máscara utilizada durante el día *Xita Corpus* o *Viejos de Corpus*.

De acuerdo con Roberto Núñez (comunicación personal), confeccionador de vestuarios para la festividad *Xita Corpus*, la máscara es elaborada artesanalmente con elementos naturales propios de las culturas otomí y mazahua. Para ello utilizan “quiote” (del nahuatl “*kiotl*” que significa retoño o vástago de maguey) e ixtle (que en nahuatl significa fibra de maguey o agave) combinado con hojas de maíz y pirul (*xaza* en otomí *peloncahuatl* o *caoalcuahuitl* en nahuatl) y para tallar una sola pieza de “quiote” algunos artesanos emplean diferentes herramientas que van desde sólo un cuchillo, un taladro o una lima, hasta quienes utilizan herramientas más completas (figura 3).



**Figura 3.** “Quiote” utilizado para la elaboración de las máscaras con rostro de “Xita”.

Además de las máscaras el atuendo va acompañado con sombreros confeccionados con costales de cemento o como lo señala Vázquez et al. (2015) de ramas de perilla (*Symphoricarpos microphyllus*) arbusto propio de la zona, ropa vieja, cascabeles, utensilios de cocina hechos de barro (jarros, cazuelas y ollas), macetas con plantas de maíz, cajas rústicas (huacal), canastos y metales, que atrapan la atención de la concurrencia.

En el municipio de Temascalcingo, existen aproximadamente ocho talleres dedicados a la elaboración de estos típicos atuendos para *Xita Corpus*, cada uno creando diferentes formas y estilos propios. En los talleres se crean máscaras de cualquier tamaño, cuyo precio es de entre 400 pesos (para niño) a 5, 000 pesos (para adulto), dependiendo del tamaño en las máscaras, los detalles y accesorios que la complementan (figura 4).



**Figura 4.** Máscara *Xita* para niño (izquierda), máscara *Xita* para adulto (derecha) (Roberto Núñez, comunicación personal).

## CONCLUSIONES

La celebración de *Xita Corpus* o *Viejos de Corpus*, como resultado de la convergencia de dos culturas prehispánicas Mazahua-Otomí reiteran la identidad que aún poseen estos pueblos

indígenas a través de varias generaciones. El aprovechamiento y uso de fuentes naturales para el diseño y confeccionamiento de atuendos simbólicos, marca la armonía y conexión que guardan estos pueblos con la naturaleza.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Consejo Estatal para el Desarrollo Integral de los Pueblos Indígenas. (CEDIPIEM), 2015, última consulta: 15 de abril de 2017, disponible en: <http://cedipiem.edomex.gob.mx/otomi>
2. Consejo Estatal para el Desarrollo Integral de los Pueblos Indígenas. (CEDIPIEM), 2015, última consulta: 15 de abril de 2017, disponible en: [http://cedipiem.edomex.gob.mx/vestimenta\\_mazahua](http://cedipiem.edomex.gob.mx/vestimenta_mazahua)
3. G. J. Fernández, F. G. Martínez, “La fiesta del corpus Christi”, Univ. de Castilla-La Mancha, 2002, pp. 17-516.
4. G. Vásquez, M. C. M. Chávez, F. T. Herrera, F. M. Carreño, “La fiesta Xita: patrimonio biocultural mazahua de San Pedro el Alto, México”, Culturales, Vol. 4, 1, 2016, pp. 199-228.
5. M. C. G. Betancur, “Persona y máscaras”, Praxis Filosófica, 30, 2010, pp. 127-143.
6. M. J. P. Lina, “El Ecoturismo como desarrollo sustentable, el Parque del Borbollon Temascalcingo Estado de México”, IPN, (Tesis Doctoral), 2010, pp. 1-61.
7. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, 2009, última consulta: 10 de abril de 2017, disponible en: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/15/15085.pdf>
8. R. Questa, B. S. Utrillo, “Otomíes del norte del Estado de México y sur de Querétaro de Pueblos Indígenas del México contemporáneo”, CDI, 2006, pp. 5-59.
9. Y. T. C. Zaldívar, “Las plantas sagradas del Xita”, UNAM, IIA, 9, 01, 2014, pp. 293-305.

**NANOTECNOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA SEGURA. UNA DESCRIPCIÓN FARMACOCINÉTICA.**

Urías Bautista Sánchez<sup>1</sup>, Alejandro Chehue Romero<sup>1</sup>, Sergio Arturo Galindo Rodríguez<sup>2</sup> y Ana Luisa Robles Piedras<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias de la Salud, Área Académica de Farmacia, Cuerpo Académico de Farmacia Clínica. Ex-Hacienda la Concepción, Tlucuatla, Hgo. e-mail: [roblesa@uaeh.edu.mx](mailto:roblesa@uaeh.edu.mx)

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. Manuel L. Barragán, Ciudad Universitaria, San Nicolás de Los Garza, N.L. e-mail: [segalind@fcb.uanl.mx](mailto:segalind@fcb.uanl.mx)

**RESUMEN**

Con el progreso de los sistemas de administración de fármacos basados en la nanotecnología, las evaluaciones farmacocinéticas de estas formulaciones han ganado mucha atención. Debido a que el cumplimiento de cualquier objetivo terapéutico por un sistema de suministro de un fármaco novedoso requiere que la absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) deban ser considerados desde las primeras etapas del diseño del sistema hasta la evaluación clínica, el conocimiento de los aspectos farmacocinéticos relacionados con ADME es una parte crucial. Los principales objetivos de los sistemas de administración de fármacos basados en la nanotecnología desde un punto de vista farmacocinético son: un mejor perfil de liberación in vivo; una absorción mejorada; distribución dirigida al sitio de acción; un patrón modificado del metabolismo, un prolongado tiempo de residencia en el cuerpo y el retraso y/o disminución de la excreción del fármaco. En consecuencia, el objetivo de la presente revisión es presentar un resumen del análisis farmacocinético de los sistemas de administración de fármacos basados en la nanotecnología.

**TEORÍA.**

La "nanociencia" es el estudio de fenómenos y la manipulación de materiales a escala atómica, molecular y macromolecular, donde las propiedades difieren significativamente de las de mayor escala; y "nanotecnologías" son el diseño, la caracterización, la producción y la aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y el tamaño, a escala nanométrica (5).

Los campos crecientes de la nanociencia y la nanotecnología han transformado muchos sectores de la industria, las áreas de biotecnología, electrónica, cosmética, ciencias alimentarias y farmacéutica. En particular, la aplicación estratégica de las nanotecnologías a la investigación y el desarrollo farmacéutico ha llevado al desarrollo exitoso de nanofármacos, descritos como sistemas de suministro de fármacos desarrollados para operar en el rango de tamaño nanométrico con propiedades de ingeniería novedosas que proporcionan beneficios médicos en el tratamiento clínico de varias enfermedades (2).

Hoy en día varias enfermedades como la diabetes, el cáncer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, las enfermedades cardiovasculares y la esclerosis múltiple, así como diferentes tipos de enfermedades inflamatorias o infecciosas graves (por ejemplo, el VIH) constituyen un elevado número de enfermedades graves y complejas que plantean un problema grave para la humanidad. La nanomedicina es una aplicación de la nanotecnología que trabaja en el campo de la salud y la medicina, hace uso de nano materiales. En el futuro, la nanomedicina beneficiará a la nanotecnología molecular. El área médica de la aplicación de nanociencia tiene muchos beneficios proyectados y es potencialmente valiosa para todas las razas humanas; con la ayuda de ésta, puede ser posible la prevención de las enfermedades, la detección temprana, el diagnóstico mejorado, el tratamiento adecuado y el seguimiento.

Actualmente la investigación sobre nanofármacos está a la vanguardia; los primeros esfuerzos se centraron en mejorar las propiedades moleculares de agentes terapéuticos y diagnósticos ya disponibles, pero más recientemente, se ha intentado aplicar nuevas modalidades terapéuticas y de diagnóstico para mejorar la capacidad de desarrollo. Los principales objetivos en el desarrollo de los nanofármacos son: 1) la focalización y el suministro específicos de fármacos, 2) mayor

seguridad y biocompatibilidad, 3) desarrollo de nuevos medicamentos con un amplio margen de seguridad y 4) comportamiento farmacocinético mejorado (6).

Teóricamente, los nanofármacos pueden pasar fácilmente a través de los vasos sanguíneos capilares finos y el endotelio linfático, y pueden tener tiempos de circulación más largos en la sangre y/o mayor capacidad de unión y acumulación en algunos sitio de acción (7). En particular, las nanotecnologías se han utilizado para desarrollar fármacos dirigidos a un sitio de acción específico para el tratamiento de enfermedades cerebrales (8). Los nanofármacos también pueden producir menos respuesta inflamatoria e inmune en los tejidos en comparación con fármacos de mayor tamaño. Sin embargo, a pesar de estas atractivas características, dependiendo de sus características físicoquímicas (como la superficie de las partículas, el tamaño y la composición química), los nanofármacos pueden inducir estrés oxidativo, daño genético y la inhibición de la división celular y muerte celular (9). La nanotoxicología está emergiendo como una importante subdisciplina de la nanociencia y la nanotecnología debido al hallazgo de los efectos tóxicos crecientes derivados del uso de los nanofármacos y nanomateriales en organismos vivos.

### **Características farmacocinéticas generales de los nanofármacos**

Una compleja serie de factores determinan el rendimiento biológico de los nanofármacos: las propiedades físicoquímicas del agente bioactivo a suministrar, la nanoestructura utilizada para el suministro, las interacciones entre estas dos series de características, así como el conjunto de eventos impuestos sobre los nanofármacos por el cuerpo huésped.

Los factores físicoquímicos relacionados con las nanopartículas no sólo controlan el tiempo de residencia de los nanofármacos dentro de la circulación sanguínea, sino que también juegan un papel importante en el patrón de distribución tisular, el modo de internalización celular, el tráfico intracelular, la liberación de contenido y la toxicidad. Los factores físicoquímicos incluyen la distribución del tamaño de las partículas, la forma, la densidad, la composición química, las propiedades mecánicas (por ejemplo, la rigidez y la resistencia) y las características superficiales (por ejemplo, hidrofiliidad/hidrofobicidad, conformación de polímeros/ligandos adsorbidos superficialmente o injertados, densidad superficial, etc.) (10-12).

Una serie de factores biológicos relacionados con la anatomía y la fisiología del organismo huésped pueden influir en el tiempo de circulación y en el perfil de distribución tisular de un sistema portador de fármaco nanoparticulado y, por tanto, en el perfil farmacocinético del fármaco que se administra (13).

Básicamente, estos factores afectan a uno o más elementos del sistema ADME y dan como resultado una nueva concentración de fármaco frente a la curva de tiempo con respecto a diferentes compartimentos biológicos. Por lo tanto, para conseguir mejores sistemas de entrega o de diagnóstico y/o objetivos terapéuticos a partir de nanopartículas, es necesaria una comprensión completa del perfil farmacocinético del agente terapéutico de interés, así como la interacción específica o no específica de la nanoestructura(s) con diferentes tejidos y tipos de células, incluyendo el patrón de biodistribución.

En general, acontecimientos secuenciales le suceden a las nanoestructuras asociadas a fármacos dentro del organismo después de su administración; los nanoacarreadores entran en el cuerpo, se absorben (en el caso de las nanoestructuras extravascularmente administradas), y se distribuyen a través de la circulación sistémica a varios órganos o tejidos. Se someten a varias modificaciones o conservan su estructura original, entran en las células de un órgano durante un período de tiempo antes de ser degradadas y finalmente desaparecen del cuerpo a través de diferentes vías de eliminación, principalmente a través del hígado y el riñón (14).

De esta secuencia típica, pueden producirse algunas desviaciones dependiendo de la nanoestructura y del fármaco que se administra. Paralelamente a estos escenarios, la cinética de liberación del fármaco fuera del nanoacarreador juega un papel clave en la interfaz fármaco-acarreador. Si el fármaco abandona el vehículo inmediatamente después de la administración, las características farmacocinéticas del fármaco rigen el comportamiento final, o en el otro extremo, cuando el fármaco no abandona el portador en absoluto, el resultado es determinado por el comportamiento de desintegración/eliminación del acarreador en el cuerpo. Sin embargo, las situaciones reales reportadas hasta ahora, reflejan una combinación de estos dos



comportamientos. En la Tabla1, se presenta un enfoque ADME para describir los diferentes fenómenos que una nanoestructura experimenta dentro del organismo, para explicar los principales factores que determinan el destino de una nanoestructura portadora de fármacos (10).

**Tabla 1. Breve descripción de los principales eventos que puede experimentar una nanoestructura a través del proceso ADME.**

Proceso ADME	Principales eventos
<b>Absorción</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Las partículas cargadas positivamente se absorben más eficientemente a través del tracto gastrointestinal en comparación con las negativas y neutras.</li> <li>• La absorción GI de nanopartículas más pequeñas parece ser mayor que los tamaños más grandes.</li> <li>• Más del 80% de las nanopartículas inhaladas de tamaño &lt;100 nm pueden ser acumuladas en el tracto respiratorio.</li> <li>• Las nanopartículas inhaladas pueden considerarse absorbidas a través de la vía del nervio olfativo.</li> <li>• Después de la aplicación de un movimiento de flexión, las partículas de 50-100 nm penetran a través de la epidermis.</li> <li>• Las partículas cargadas negativamente penetran la epidermis más eficientemente en comparación con las negativas y neutras.</li> <li>• Las nanopartículas de formas esférica y elipsoidal migraron a través de la dermis intacta.</li> <li>• Las nanopartículas con el tamaño de 100-150 nm pueden moverse en gran medida desde el sitio de inyección subcutánea en el torrente sanguíneo en comparación con las más grandes.</li> <li>• La hidrofiliidad/hidrofobicidad de las superficies de las nanopartículas tiene un papel importante en el drenaje linfático desde el sitio de inyección hasta los linfáticos circundantes.</li> </ul>
<b>Distribución</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Las nanopartículas con rangos de mayor tamaño se recuperaron únicamente dentro del tracto GI, mientras que los tamaños más pequeños se distribuyeron en los riñones, el hígado, el bazo, los pulmones y hasta el cerebro.</li> <li>• El perfil de distribución de las nanopartículas depende de los determinantes de tamaño, carga y recubrimiento funcional.</li> <li>• Las nanopartículas pueden distribuirse significativamente al hígado, corazón, riñón, bazo y cerebro a través de la circulación sistémica después de la absorción pulmonar.</li> <li>• Cuando el diámetro de las nanopartículas era inferior a 100 nm, la entrada del cerebro fue más pronunciada.</li> <li>• Las nanopartículas cargadas positivamente tienen una tasa más alta de absorción por el sistema retículo endotelial en comparación con las neutras o negativamente cargadas.</li> </ul>
<b>Metabolismo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El patrón de metabolismo del fármaco cargado en nanopartículas sería alterado debido a ser enmascarado de las enzimas metabolizantes.</li> <li>• Las nanopartículas inertes pueden metabolizarse eficazmente en el cuerpo.</li> <li>• Las nanopartículas con grupos funcionales se metabolizarían mediante vías de bioconversión enzimática química.</li> </ul>
<b>Excreción</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No sólo la composición química, sino también el tamaño de una nanopartícula puede influir en su excreción.</li> </ul>

La cinética de liberación del fármaco del vehículo debe ser considerada cuidadosamente antes de ser probado en estudios *in vivo*, esto es de gran importancia en la entrega del fármaco al sitio de acción. La vía de entrada es importante en el grado y extensión de la aparición o llegada del fármaco a la circulación sanguínea. Dependiendo del tipo de nanosistema utilizado, la vía de eliminación de partículas del cuerpo huésped puede ser principalmente hepática o renal. El metabolismo hepático implica la bioconversión de la estructura de las partículas por enzimas hepáticas. Se ha publicado un número limitado de estudios sobre la excreción renal de los nanoacarreadores, y la interacción entre el portador y los mecanismos excretores renales siguen siendo en gran parte no identificados, por lo que el tema de la generación de productos tóxicos como resultado del metabolismo hepático de los nanoacarreadores debe ser considerado cuidadosamente para cada nueva administración de nano-fármacos.

Los nanosistemas farmacéuticos se pueden administrar por todas las vías tanto locales como sistémicas permitiendo controlar la liberación y biodistribución del fármaco, mejorar su absorción a través de epitelios o células y protegerlo de su degradación. Sin embargo, hasta el momento actual, aun no existe un nanosistema farmacéutico universal adecuado para la liberación de cualquier fármaco.

### CONCLUSIONES

Se espera que con el uso de la nanotecnología el tratamiento de las enfermedades mejore significativamente el tratamiento y el diagnóstico (15). Muchas de las mejoras serán importantes, pero incrementarán los efectos secundarios del tratamiento, la capacidad de modificar la dosificación de fármacos y la capacidad de rastrear la administración de terapias con imágenes en modalidades terapéuticas. Sin embargo, se espera que algunas aplicaciones hagan una diferencia importante, pues la capacidad de cruzar barreras biológicas puede permitir, por ejemplo, tratamientos más efectivos de cánceres cerebrales y pancreáticos.

En general, se espera que otros progresos en el área se muevan en dos vías paralelas. La primera se asociará con la traducción continua al entorno clínico; mientras que la segunda, se dirigirá al desarrollo de nuevas herramientas y técnicas en el campo de la investigación, donde la innovación continua en el área de nanomateriales conducirá a diseños más sofisticados y multifuncionales de nanopartículas y nanoacarreadores.

### BIBLIOGRAFÍA

1. S. Onoue, S. Yamada, H. K. Chan, "Nanodrugs: pharmacokinetics and safety", *Int. J. Nanomedicine*. Vol. 20, 9, 2014, pp.1025-1037.
2. H. Devalapally, A. Chakilam, M. M. Amiji, "Role of nanotechnology in pharmaceutical product development", *J. Pharm. Sci.*, Vol. 96, 10, 2007, pp. 2547-2565.
3. S. Naahidi, M. Jafari, F. Edalat, K. Raymond, A. Khademhosseini, P. Chen., "Biocompatibility of engineered nanoparticles for drug delivery", *J. Control Release*, Vol. 166, 2, 2013, pp.182-194.
4. R. A. Petros, J. M. DeSimone, "Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications", *Nat. Rev. Drug Discov.*, Vol. 9, 8, 2010, pp. 615-627.
5. W. Yang, J. I. Peters, R. O. Williams, "Inhaled nanoparticles –a current review", *Int. J. Pharm.*, Vol. 356, 1–2, 2008, pp. 239-247.
6. W. H. De Jong, P. J. Borm, "Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards", *Int. J. Nanomedicine*, Vol 3, 2, 2008, pp.133-49.
7. K. Y. Win, S. S. Feng, "Effects of particle size and surface coating on cellular uptake of polymeric nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs", *Biomaterials*, Vol. 26, 15, 2005, pp. 2713-2722.
8. J. Kreuter, "Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs", *Adv. Drug Deliv. Rev.*, Vol. 47, 1, 2001, pp. 65-81.
9. A. Nel, T. Xia, L. Mädler, N. Li, "Toxic potential of materials at the nanolevel" *Science*, Vol. 311, 5761, 2006, pp. 622-627.

10. M. Hamidi, A. Azadi, P. Rafiei, H. Ashrafi, "A pharmacokinetic overview of nanotechnology-based drug delivery systems: an ADME-oriented approach", *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, Vol. 30, 5, 2013, pp. 435-67.
11. B. D. Chithrani, A. A. Ghazani, W. C. W. Chan, "Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells", *Nano Lett.*, Vol. 6, 4, 2006, pp. 662-668.
12. R. Hardman, "A toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors", *Environ. Health Perspect.*, Vol. 114, 2, 2006, pp. 165.
13. S. M. Moghimi, A. C. Hunter, J. C. Murray, "Nanomedicine: current status and future prospects", *FASEB J.*, Vol. 19, 3, 2005, pp. 311-330.
14. H. C. Fischer, W. C. W. Chan, "Nanotoxicity: the growing need for in vivo study", *Curr. Opin. Biotechnol.*, Vol. 18, 6, 2007, pp. 565-571.
15. P. Grodzinski, D. Farrell, "Future opportunities in cancer nanotechnology-NCI strategic workshop report", *Cancer Res.*, Vol. 74, 5, 2014, pp. 1307-1310.

## **LAS GERENCIAS MUNICIPALES COMO FORMAS DE CONSTRUCCIÓN DE CIUDAD Y CIUDADANÍA**

Magdiel Gómez Muñiz<sup>1</sup> y Margarita Isabel Islas Villanueva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de la Ciénega.

<sup>2</sup> Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Económicas Administrativas.

### **Resumen**

Las Gerencias Municipales son una herramienta organizacional que facilita la toma de decisiones y fortalece la comunicación entre los principales involucrados en la hechura, implementación y evaluación de las diferentes políticas públicas que impulsa el gobierno. Sin duda, esta figura normativa obedece a un nuevo esquema en la forma de hacer política que tiene sus orígenes en las escuelas norteamericanas de la administración pública.

### **INTRODUCCIÓN**

#### **El City manager**

El origen de este término obedece esencialmente a las circunstancias de crisis sociales, gubernamentales y políticas que vivieron ciudades más de un siglo y en las cuales se exigía una manera profesional de actuar sobre las problemáticas que la dinámica social demandaba.

Por consiguiente aparece la figura de una autoridad la actuación debe ser ejecutada por "profesionales" que cuentan con las competencias claras y precisas para una buena función, más allá de la voluntad, preparación y experiencia general.

Los Gerentes de ciudad evolucionaron con el paso de los años dando otras figuras como el gerente municipal, el término de gerente municipal es aquella persona que en una organización tiene la responsabilidad y obligación de guiar a los demás, de dictar y dar órdenes y de lograr que las cosas se realicen, para poder cumplir correctamente con el objetivo, del mismo modo el gerente debe tomar decisiones que sean de impacto en el equipo de personas con las que labora, el rol que desempeña una gerencia es fundamental para el correcto funcionamiento del ente público que se desempeña.

La Gerencia Municipal son estructuras que tienen como función dinamizar todas las decisiones de operatividad para lograr eficacia y eficiencia en el sector público.

Las gerencias municipales tienen su origen en las escuelas anglosajonas de administración pública y copian en esencia las funciones de la iniciativa privada. Por tanto, se implementan esquemas de operatividad del sector empresarial hacia las administraciones públicas y parte de un modelo parlamentario.

Esta figura vienen dando resultado en países como: Argentina, Colombia, México, Venezuela, Brasil y Uruguay. Canadá, Chile, Perú, Estados Unidos, Australia, India, Honduras, Inglaterra, entre otros.

La figura de gerente de la ciudad deberá tener una temporalidad en el desempeño de sus funciones que vayan más allá (12 meses) de las administraciones gubernamentales.

Los cuales tienen como función la coordinación, organización, planteamiento, dirección y control de todas acciones del organismo municipal y hacen una evaluación del desempeño de los titulares de área a su cargo.

Es el instrumento encargado de la gestión de la calidad de todas las actuaciones de la corporación, y de manera particular, en lo que se refieren a asegurar el funcionamiento de los servicios públicos municipales y realización de la inversión municipal.

La administración pública o gubernamental a nivel municipal, la ruta de acción es distinta y depende del marco legislativo existente. Por lo general operación y administración del gobierno municipal están bajo una misma persona, en este caso un presidente municipal. A esto debe añadirse sus funciones legislativas y políticas. Sin duda todo ello es una responsabilidad

sumamente amplia y sobre todo complicada, sin importar el tamaño del municipio, aunque si hay algunas diferencias.

Ante el anterior panorama, algunos gobiernos municipales juntos la evolución de la gerencia de la ciudad se han creado figuras administrativas que apoyen al presidente municipal con sus tareas operativas y administrativas.

Hay dos figuras administrativas:

- a) Administrador Municipal (Chile, Perú, Honduras,)
- b) Jefe de Gabinete o Gerente municipal

Ambas figuras tienen grandes diferencias. La figura del administrador municipal por lo general no están institucionalizadas, es decir, su existencia no se plasma en el correspondiente reglamento municipal o bien en el manual de organización. Este hecho le hace vulnerable a los cambios de gobierno. Además, por ser una figura totalmente anclada al presidente municipal.

### **El gerente municipal como vínculo con alcalde y coordinadores**

El gerente municipal tiene la tarea de recolectar y evaluar las líneas o ejes de acción de las coordinaciones en su mando, para así poder plantear junto con los coordinadores salida y estrategias que beneficien a la población.

Por consiguiente ellos son básicamente quienes toman las decisiones que le dan rumbo al municipio con ideas plasmadas en acciones que mejoren el trayecto.

Una de las grandes ventajas del trabajo en conjunto es poder colaborar de manera más eficiente creando un filtro de operación, donde la información se entrega en tiempo y forma así cumplir con el objetivo; donde el gerente municipal recibe toda la información de las coordinaciones a su cargo.

### **Las gerencias municipales como instrumento con la participación ciudadana.**

El gerente de ciudad es una herramienta de gran importancia para vincular a los ciudadanos con la administración pública, el gerente municipal puede auxiliar, asesorar y orientar a los ciudadanos.

La participación ciudadana en una forma en que los individuos se involucran en los espacios de la política pública municipal, esta participación está arraigada al nuevo modelo gubernamental ya mencionado que se lleva a cabo por el gobierno- sociedad que tiene por finalidad construir una cultura de ciudadanía. Nuestra sociedad es una criatura estatal, pero de un estado moderno de derecho, que garantiza los derechos de sus ciudadanos, exige el cumplimiento de obligaciones, respeta y fomenta la autonomía social.

Suele dificultarse la participación ciudadana si los integrantes no muestran poseer capacidades informativas, cognitivas, técnicas, morales, financieras y cívicas para resolver un objetivo público de valor, a falta de estas solo se podría hablar de una queja o una crítica más que una participación ciudadana formal, para que su participación no sea sólo intelectual sino práctica, en el diseño y en el proceso.

## **CONCLUSIONES**

### **Los desafíos a futuro**

El desafío mayor, complejo, de cultura ciudadana y de larga efectividad, es lograr la unión y hacer red; ciudadano con gerencia municipal de tal forma que ambos con una buena comunicación obtengan una fuerza superior para beneficio para la sociedad.

### **Bibliografía**

Aguilar Villanueva, L. (1993). *La implementación de las políticas: Antologías de políticas públicas* (Primera ed.). México: Miguel Ángel Porrúa. Recuperado el 2017

Canto Chac, M. (2011). *Participación ciudadana en las políticas públicas* (Vol. IV de Biblioteca básica de administración pública). México: SIGLO XXI. Recuperado el 2017

Ponce de León Armenta, R. (2011). *La implementación de las políticas públicas* (Primera ed.). México: Porrúa. Recuperado el 2017

Weber, M. (1919). *Política y ciencia*. (C. Correas, Trad.) Buenos Aires, Argentina: Leviatan. Recuperado el 2017

Zepeda Lecuona, G. (2011). Seguridad y Justicia Penal: Papel y Realidad: ¿Están funcionando los juicios orales en México? *FOLIOS, Publicación de discusión y análisis*, 24, 92. Recuperado el 2017

## **CAMBIOS HISTOLÓGICOS EN DIFERENTES DAÑOS MENISCALES EN ARTICULACIÓN DE RODILLA**

Aguilar-Gaytán Rocío\*<sup>1</sup>, Pérez-Jiménez Francisco<sup>2</sup>, Pichardo-Bahena Raúl<sup>3</sup>, Reyes-Medina Naxielli<sup>3</sup>, Ibarra Clemente<sup>1,2,4</sup>.

<sup>1</sup>Unidad de Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa, <sup>2</sup>Artroscopía y Medicina del Deporte, <sup>3</sup>Servicio de Anatomía Patológica, <sup>4</sup>Dirección General. Instituto Nacional de Rehabilitación.

### **RESUMEN**

El menisco es un tejido que forma parte y estabiliza la articulación de la rodilla. La región externa vascularizada está formada por fibrocondrocitos. La zona interna avascular por condrocitos responsables del mantenimiento funcional del menisco. Diferentes tipos de lesiones meniscales se han asociado con la severidad del daño al cartílago en enfermedades como la osteoartritis. El objetivo es comparar los cambios histológicos que ocurren en el menisco humano con diferentes lesiones meniscales articulares. Se colectaron muestras de menisco humano de pacientes sometidos a menisectomía. Fueron fijados en paraformaldehído (PFA)-PBS al 4%, deshidratados y embebidos en parafina. Los cortes histológicos fueron teñidos con hematoxilina-eosina, safranina-O, azul alciano, azul de toluidina y picrosirius. Se realizó una inmunolocalización con CD34 para determinar el grado de vascularidad. Se observaron cambios importantes en la menisectomía aislada, la producida por inestabilidad de la rodilla y reconstrucción de ligamento cruzado anterior y por degeneración meniscal. Los resultados muestran que a mayor daño articular se observa hipocelularidad, desorganización de las fibras de colágena, con edemas, quistes, células picnóticas, separación fibrocartilaginosa, mucinas, alteración en la producción y cantidad de proteoglicanos, alteración en la organización y tipo de fibras de colágena y un aumento en la vascularidad. Estos resultados muestran que es alto el riesgo de desarrollar osteoartritis en rodilla por daño al menisco, por lo que estudios que demuestren cambios importantes en la celularidad y en la producción de MEC, pueden apoyar a entender la falla en la reparación y regeneración de estos tejidos.

### **INTRODUCCIÓN**

El menisco es una estructura semicircular que se encuentra localizado entre la superficie articular del fémur y la tibia en la rodilla (Figura 1A). La articulación tiene un menisco medial y uno lateral. La región externa o periférica del menisco es un área vascularizada e inervada, la región interna no contiene vasos sanguíneos ni está inervada (Figura 1B). Dos tercios externos del menisco son fibrocartilago, mientras que la zona interna está arreglada como cartilago hialino (1). La colágena tipo I tiene una predominancia del 90%, la colágena tipo II se encuentra en la zona interna del menisco y hay pocas cantidades de colágena III, IV, V y VI. Ambos meniscos contienen células llamadas fibrocondrocitos quienes mantienen la matriz extracelular. La matriz contiene en un 75% colágena tipo I y el resto está formado por proteoglicanos, proteínas de adhesión y elastina. Las fibras de colágena están tejidas firmemente y están arregladas en un patrón circunferencial que le da fuerza y resistencia, así como la fuerza de compresión en el lado interno y la carga tensil en la parte periférica. Las principales funciones del menisco son absorber el choque y la transmisión de carga durante el movimiento de la articulación, así como durante la carga estática y la limitación de la flexión y la extensión (2). Es común que el menisco pueda sufrir lesiones y por lo tanto requerir de alguna cirugía para su reparación o su eliminación (menisectomía). La eliminación parcial o completa del menisco conlleva a la deformación de la articulación, se incrementa la fuerza de contacto del cartílago articular y esto da como resultado un deterioro intra-articular en la rodilla y por lo tanto el desarrollo de la osteoartritis (OA) (3). El ligamento cruzado anterior (LCA) es un

importante estabilizador de la rodilla, funciona como el principal limitante que previene la rotación anterior de la tibia en el fémur y estabiliza el estrés del valgus. Lesiones al LCA frecuentemente dan como resultado una inestabilidad y una limitada función de la rodilla (4). La mayoría de los pacientes con defecto del LCA pueden caminar normalmente, pero poco a poco van presentando un deterioro radiológico y funcional debido al avance de la OA. La relación entre la OA y la ruptura del LCA es una de las principales razones citadas en la reconstrucción del LCA, aunque aún no está completamente claro que causa exactamente la OA después de la ruptura del LCA (5). Existe una fuerte evidencia de que el menisco dañado puede llevar a cambios osteoartrotróficos en las rodillas con o sin daño en el LCA. Diversos trabajos han demostrado que cuando ocurre un desgarre meniscal puede ocurrir al mismo tiempo una ruptura del LCA y que el daño al menisco incrementa con el daño al LCA por la carga anormal y las fuerzas de cizallamiento. El daño meniscal se puede prevenir con la reconstrucción del LCA (6). Hasta el momento existen pocos trabajos que describen los cambios histopatológicos observables en el menisco osteoartrotrófico, pero no se han reportado trabajos que describan los cambios histológicos en menisco humano lesionado con ruptura del LCA. Por lo que este trabajo se realizó para conocer y describir los cambios histológicos en la matriz extracelular en el menisco dañado con y sin antecedentes de lesión del LCA. Cambios que podrían apoyar a entender el efecto del desgarre meniscal y la inestabilidad de la articulación sobre el desarrollo de la OA

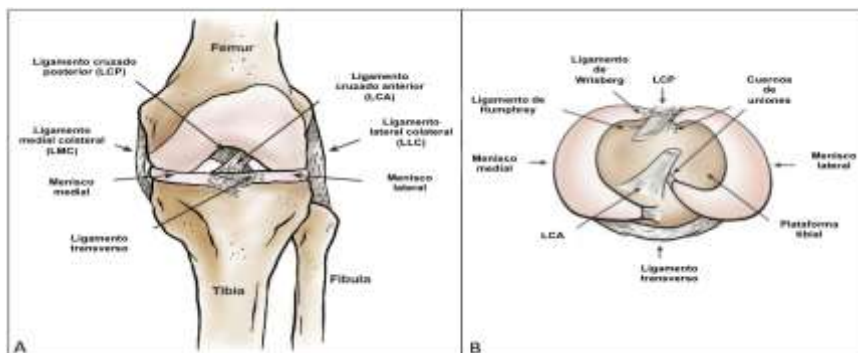


Figura 1. Anatomía de la rodilla (A) y de los meniscos (B) en la articulación de la rodilla de humano. Los meniscos están localizados entre el fémur y la tibia (A). Los meniscos están atravesados por diferentes ligamentos, los cuales estabilizan la rodilla (B). Los cuernos de unión conectan la placa tibial al menisco (B). (Tomado de Elephterios et al. 2012).

## OBJETIVO

Observar y describir los cambios histopatológicos observados en meniscos asociados con y sin daño al LCA.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Meniscos Humanos

Los menisco humanos fueron colectados con la aprobación del comité de Investigación del INR. Se obtuvieron muestras de 9 pacientes con daño meniscal que fueron sometidos a menisectomía por razones clínicas. Se utilizó como control el producto de amputación de un paciente joven por otras causas.

### Análisis Histológico



Se obtuvieron fragmentos meniscales de cada uno de los pacientes. Estos fragmentos fueron fijados en paraformaldehído (PFA) 4%-PBS (amortiguador de fosfatos) por 24 horas, deshidratados en un gradiente de etanol hasta el 100% y fueron guardados a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. Una porción de aproximadamente 5 mm fue cortada y embebida en parafina Paraplast (Sigma-Aldrich). Los cortes histológicos de 4 micras se hicieron en un microtomo Leica RM2125RT. Estos cortes se montaron en un portaobjetos de vidrio para ser teñidos. Los cortes fueron desparafinados usando xileno y etanol y teñidos para evaluar los cambios histológicos (7). Cada fragmento de menisco fue cortado transversalmente para poder observar, tanto la región interior avascular como la región exterior vascular del menisco. Se llevaron a cabo las tinciones de Hematoxilina y Eosina (H&E), azul alciano, azul de toluidina, safranina-O y rojo picrosirio (8, 9). Todos los análisis se realizaron usando un microscopio Axio Plan 2 Imaging Zeiss.

### **Cuantificación y Desarrollo de un Sistema de Evaluación Histológica**

Se creó un sistema de evaluación para comparar los cambios entre los diferentes grupos de meniscos dañados (Tabla 3). Los criterios fueron seleccionados de acuerdo a los cambios más significativos observados con respecto a una muestra control. El valor 0 representa las características histológicas de un menisco normal y los valores 1 a 4 representan el aumento en el grado de daño al tejido meniscal. El cual varía desde la degeneración media, moderada o intensa.

### **Cuantificación de Angiogénesis.**

Para la cuantificación de la presencia o ausencia de vasos sanguíneos se llevó a cabo una inmunohistoquímica, en tejido fijado en PFA e incluido en parafina, usando un anticuerpo monoclonal anti-CD34 (monoclonal, clona QBEnd-10, BioSB) con una dilución 1:500, con el método avidina biotina-peroxidasa. Una vez identificada la señal del anticuerpo se procedió a cuantificar la cantidad de vasos presentes en el menisco a 20X y 40X, usando un microscopio Axio Plan 2 Imaging Zeiss.

### **Análisis Estadístico**

Las diferencias entre los tres grupos de pacientes estudiados fue analizado usando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Se considero una significancia con una  $P < 0.05$ . El análisis estadístico se realizo usando el programa SPSS Statistics 17.0.

## **RESULTADOS**

### **Clasificación y Datos Clínicos de los Pacientes**

Se obtuvieron fragmentos de menisco de 9 pacientes con diferentes daños meniscales (ver tabla 1). Los 9 acudieron por dolor y limitación del movimiento de la rodilla. Tres de ellos fueron sometidos a una menisectomía por daño en el LCA, el segundo grupo fue menisectomía sin lesión del LCA y el tercer grupo tuvieron una menisectomía por daño degenerativo. Las edades variaron desde 16 años hasta 53 años con un promedio de 34 años. La mayoría de los pacientes tenían lesionado el menisco medial de la rodilla derecha. Solo un paciente con menisectomía degenerativa presentó inestabilidad de la articulación de la rodilla y un paciente con menisectomía con daño al LCA presentó limitación funcional de la misma (Tabla 1).

**TABLA1. CLASIFICACIÓN DE LOS PACIENTES MENISECTOMIZADOS**

<b>MENISECTOMÍA</b>	<b>EDAD</b>	<b>DIAGNÓSTICO</b>	<b>MOTIVO DE CONSULTA</b>	<b>CLÍNICA</b>
LCA	43	Lesión de LCA rodilla derecha	Gonalgia o dolor en tobillo y rodilla.	Dolor e inestabilidad en rodilla
LCA	27	Lesión de LCA rodilla izquierda	Gonalgia o dolor y aumento de volumen, limitación funcional.	Dolor a los esfuerzos, bloqueo de rodilla
LCA	44	Lesión del LCA rodilla derecha	Gonalgia posterior a valgo forzado levantando objeto pesado.	Dolor e inestabilidad en rodilla.
Aislada	53	Lesión de menisco medial de rodilla izquierda	Dolor y aumento de volumen rodilla.	Dolor y limitación funcional.
Aislada	16	Menisco discoide lateral rodilla derecha.	Gonalgia y sensación de chasquido posterior a jugar soccer.	Dolor en línea articular medial.
Aislada	34	Lesión en asa de balde menisco medial derecho	Gonalgia y chasquido posterior a extensión.	Dolor y crepitación a la flexión y extensión.
Degenerativa	29	Lesión menisco medial rodilla derecha	Dolor e inestabilidad.	Aumento de volumen en línea interarticular medial.
Degenerativa	49	Lesión menisco medial rodilla derecha	Gonalgia.	Dolor y sensación de bloqueo.
Degenerativa	26	Lesión menisco medial rodilla derecha	Dolor posterior a valgo forzado.	Dolor en línea articular medial.

**Datos Clínicos de los Pacientes Menisectomizados.**

Las edades para los pacientes con menisectomía degenerativa variaron entre 26 y 46 años de edad, siendo los pacientes mas jóvenes (26 y 29 años) los que tuvieron un mayor tiempo de lesión previo a la cirugía. No se encontró correlación entre la degeneración meniscal con la edad. Para el grupo de menisectomía por LCA no hubo correlación entre la edad y los tiempos de lesión antes de la cirugía. Es decir, que estos fueron muy variables con edades de 27 a 44 años de edad y tiempo de lesión de 12 a 24 meses. Para el grupo de menisectomía aislada a pesar de que los tiempos de lesión fueron similares las edades variaron de 16 a 53 años. No hubo diferencias entre el peso, la talla y el índice de masa corporal (IMC) entre los tres grupos. El promedio del peso fue de 78 Kg variando desde 58 kg hasta 96 kg. Con respecto a la talla el promedio fue de 170 cm con rango de 155 a 176 cm. El IMC fue en promedio de 29.4 con un rango de 22.65 a 31.22. No se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos (Tabla 2).

**TABLA 2. DATOS CLÍNICOS DE LOS PACIENTES MENISECTOMIZADOS**

<b>MENISECTOMÍA</b>	<b>EDAD</b>	<b>TIEMPO DE LESIÓN HASTA LA CIRUGÍA (MESES)</b>	<b>PESO (KG)</b>	<b>TALLA (CM)</b>	<b>IMC</b>
LCA	43	24	58	160	22.65
LCA	27	12	78	172	26.37
LCA	44	12	68	166	24.68

AISLADA	53	5	75	155	31.22
AISLADA	16	4	69	169	24.16
AISLADA	34	5	96	176	30.99
DEGENERATIVA	29	72	85	170	29.41
DEGENERATIVA	49	12	94	174	31.05
DEGENERATIVA	26	60	87	170	30.10

**Sistema de Evaluación Histológica.**

Se creó un sistema de evaluación para comparar los cambios histológicos entre los diferentes grupos de meniscos dañados. Los criterios fueron seleccionados de acuerdo a los cambios más significativos observados (Tabla 3).

**TABLA 3. VALORES DE EVALUACIÓN HISTOLÓGICA PARA CADA TINCIÓN**

<b>HEMATOXILINA Y EOSINA (H&amp;E)</b>		<b>Valor</b>
<b>Bordes:</b>	Suaves	0
	Ondulación y fibrilación leve	1
	Ondulación y fibrilación marcada	2
	Fibrilación y disrupción intensa	3
<b>Celularidad:</b>	Normal	0
	Hiper celularidad difusa	1
	Hipo celularidad/ acelularidad difusa o en regiones	2
	Hipo celularidad, lagunas vacías, células picnóticas	3
<b>Colágena:</b>	Fibras organizadas, matriz extracelular homogéneamente eosinófila	0
	Fibras organizadas, focos difusos de degeneración hialina o mucinosa	1
	Fibras desorganizadas, focos confluentes o bandas de degeneración hialina o mucinosa.	2
	Fibras desorganizadas, separación fibrocartilaginosa (edema, formación de quistes), deshilachamiento severo y lágrimas.	3
<b>AZUL ALCIANO</b>	Normal	0
	Disminuido	1
	Homogéneo	2
	Heterogéneo leve	3
	Heterogéneo moderado	4
<b>AZUL DE TOLUIDINA</b>	Normal	0
	Disminuido leve	1
	Disminuido moderado	2
	Disminuido intenso	3
	Ausente	4
<b>SAFRANINA-O</b>	Normal	0
	Disminuido leve	1
	Disminuido moderado	2
	Disminuido intenso	3
	Ausente	4
<b>ROJO PICROSIRIO</b>		
<b>Morfología de fibras:</b>	Continua	1

	Discontinua	2
	Núcleos	3
	Fragmentada	4
<b>Homogeneidad:</b>	Homogénea	1
	Heterogénea	2
	Áreas mucinosas o laxas	3
	Cavidades	4
<b>Color:</b>	Verde, amarillo, naranja, rojo.	
<b>ANGIOGÉNESIS</b>	Presencia o ausencia de vasos sanguíneo por CD34.	

#### Análisis Histológico de Meniscos Humanos.

Para identificar las posibles diferencias entre cada grupo de menisectomía estudiado, se llevaron a cabo observaciones microscópicas con diferentes tinciones histológicas. Los resultados de cada una de las evaluaciones obtenidas de cada grupo con las tinciones de H&E, safranina-O, azul alciano y azul de toluidina se muestran en la tabla 4.

**TABLA 4. VALORES OBTENIDOS DE LA EVALUACIÓN HISTOLÓGICA EN CADA MENISCO ESTUDIADO POR DIFERENTES TINCIONES HISTOLÓGICAS.**

MENISECTOMÍA	H&E			TOTAL H&E	AZUL ALCIANO	AZUL DE TOLUIDINA	SAFRANINA-O
	Bordes	Celularidad	Colágena				
LCA	2	2	3	7	1	4	4
LCA	1	3	2	6	1	3	3
LCA	3	3	3	9	1	2	4
AISLADA	2	2	3	7	2	2	3
AISLADA	3	2	3	8	4	2	1
AISLADA	2	1	2	5	4	2	4
DEGENERATIVA	2	2	3	7	1	4	3
DEGENERATIVA	2	2	3	7	4	2	4
DEGENERATIVA	1	1	3	5	1	2	3

La tinción de H&E es una tinción básica que da una vista general para el análisis de la morfología y la distribución celular del tejido. Con respecto al menisco control presentó fibras de colágena bien organizadas y arregladas, con bordes suaves y celularidad presente solamente en la periferia y muy poca en el centro. En el grupo de menisectomía por lesión del LCA los bordes variaron entre los tres meniscos estudiados, desde ondulación y fibrilación leve hasta ondulación y fibrilación marcada. También en éste grupo de meniscos se presentó hipocelularidad así como una desorganización de la colágena, con separación fibrocartilaginosa, células picnóticas y áreas mucinosas. En el grupo de menisectomía aislada (sin lesión de LCA) se encontraron bordes con ondulación y fibrilación de marcada a intensa. Dos de estos meniscos presentaron hipocelularidad y un menisco hiper celularidad difusa. Mientras que las fibras de colágena estuvieron desorganizadas, con degeneración hialina y mucinosa y uno de ellos presentó un gran quiste. Con respecto al grupo de menisectomía degenerativa se encontraron bordes con ondulación y fibrilación de leve a marcada. Dos de estos meniscos presentaron hipocelularidad y uno hiper celularidad difusa. Mientras que las fibras de colágena estuvieron desorganizadas, con degeneración hialina y mucinosa (ver tabla 4). No se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos de meniscos estudiados (Figuras 2A, 2B y 2C).

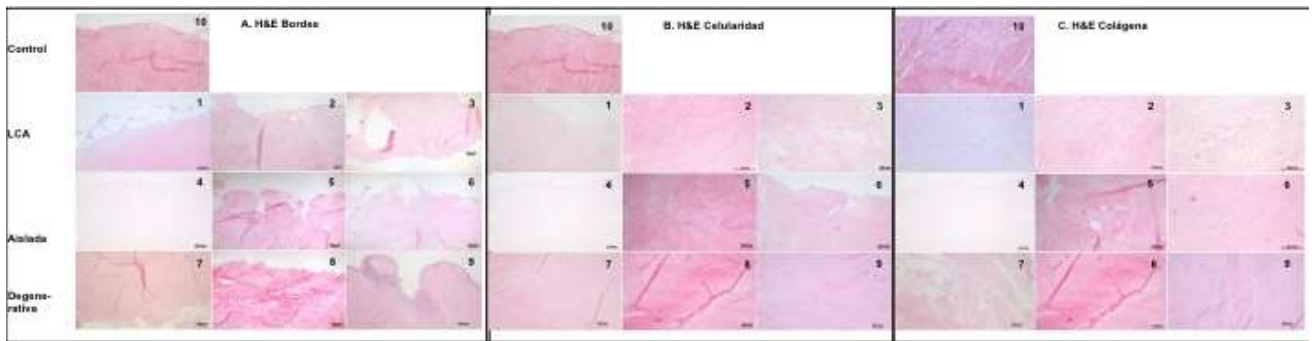


Figura 2. Evaluación histológica por tinción de H&E de muestras de meniscos con y sin daño de LCA y daño degenerativo. **A.** Se muestran los bordes de los meniscos. Bordes con ondulación y fibrilación leve 2, 9. Ondulación y fibrilación marcada 1, 4, 6, 7 y 8. Fibrilación y disrupción intensa 3 y 5, bordes suaves en 10. **B.** Se muestra hiper celularidad difusa en 6 y 9, hipocelularidad/acelularidad difusa o en regiones en 1, 4, 5, 7 y 8. Hipocelularidad y células picnóticas en 2 y 3. Celularidad normal en 10. **C.** Se muestra la organización de la colágena. Con fibras desorganizadas, focos confluentes o bandas de degeneración hialina o mucinosa en 6. Con fibras desorganizadas, separación fibrocartilaginosa, edema quistes, deshilachamiento severo y /o lágrimas en 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, y 9. Fibras organizadas en 10. 20X.

La presencia y homogeneidad de los mucopolisacáridos ácidos depositados en la matriz extracelular fueron evaluados por la tinción de azul alciano. Los cambios observados el menisco control fue una distribución homogénea de los mucopolisacáridos. En el grupo de menisectomía por lesión del LCA se observó en general en los tres meniscos estudiados una disminución importante de la presencia de mucopolisacáridos interterritorial y siendo homogénea en una zona de quistes en una muestra. Con respecto al grupo de menisectomía aislada (sin lesión de LCA) se encontraron dos meniscos con heterogeneidad moderada y uno muy homogéneo. En el grupo de menisectomía degenerativa en dos muestras está casi ausente la presencia de mucopolisacáridos con presencia de una zona de quistes con contenido amorfo eosinófilo y acelular. Solo una muestra presentó una tinción heterogénea moderada. En ningún caso se encontró coloración heterogénea leve. No se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos de menisectomía estudiados (Figura 3A). La evaluación semicuantitativa de proteoglicanos sulfatados en la matriz extracelular fueron evaluados por la tinción de azul de toluidina. Los cambios observados el menisco control fue una distribución normal de los proteoglicanos sulfatados. Aún cuando el azul alciano tiene una mayor afinidad por los sulfatos de los proteoglicanos, en el grupo de menisectomía por lesión del LCA varía desde una disminución moderada hasta la ausencia de proteoglicanos sulfatados. En el grupo de menisectomía aislada se encontraron los tres meniscos con disminución moderada de la tinción, es decir que había pocos proteoglicanos sulfatados en este tipo de lesión. En el grupo de menisectomía degenerativa un menisco presentó ausencia de proteoglicanos sulfatados. En los otros dos meniscos se encontró un disminución moderada. Uno de estos últimos también mostró quistes y áreas nodulares con edema. No se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos de meniscos estudiados, Figura 3B. La evaluación de procesos degenerativos en relación a la cantidad de GAGs de los proteoglicanos en estos meniscos se evaluó por el depósito y distribución de proteoglicanos sulfatados en la ECM de acuerdo a la intensidad de la tinción de safranina-O. No se observaron cambios degenerativos en el menisco control y con una intensidad normal. En la figura 7 se muestran las imágenes representativas de las muestras estudiadas. En general se muestra desde disminución leve hasta ausencia de color con la tinción de safranina-O y esto se observó tanto en zona superficial como en la zona interna de los meniscos estudiados. En el grupo de menisectomía por lesión del LCA se encontró desde una disminución intensa hasta la ausencia completa de GAGs. En el grupo de menisectomía aislada se observaron dos meniscos con ausencia de GAGs y uno con disminución leve. En el grupo de menisectomía degenerativa fue similar al grupo de LCA. No se encontraron

diferencias significativas entre los tres grupos estudiados con respecto a la intensidad con la tinción de safranina-O, ver figura 3C.

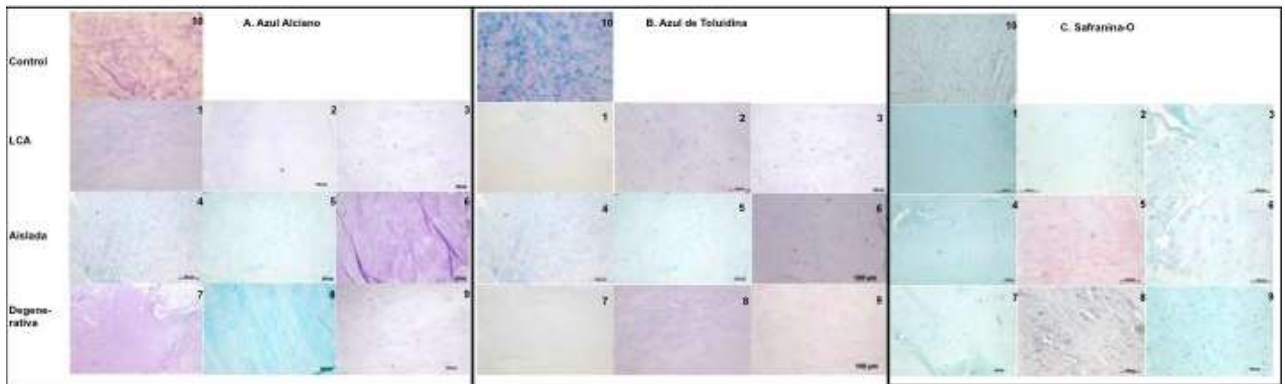


Figura 3. Evaluación histológica por tinción de azul alciano de muestras de meniscos con y sin daño de LCA y daño degenerativo. **A.** Se muestra la presencia o ausencia de mucopolisacáridos ácidos según la intensidad del colorante azul alciano. Tinción normal en el control 10. Tinción disminuida en 1, 2, 3, 7 y 9. Tinción homogénea en 4. Heterogénea moderada 5, 6 y 8. **B.** Se muestra la presencia o ausencia de proteoglicanos sulfatados según la intensidad del cambio metacromático del azul de toluidina. Tinción normal en el control 10. Tinción con disminución moderada en 3, 4, 5, 6, 8 y 9. Disminución intensa en 2 y ausente en 1 y 7. **C.** Se muestra la presencia o ausencia de proteoglicanos sulfatados según la intensidad del cambio metacromático del azul de toluidina. Tinción normal en el control 10. Tinción con disminución moderada en 3, 4, 5, 6, 8 y 9. Disminución intensa en 2 y ausente en 1 y 7. 20X.

La tinción de rojo-picrosirio fue desarrollada por Junqueira et al., en 1979 (9). Esta tinción tiñe fibras de colágena en diferentes tejidos y que bajo la luz polarizada se observan como color verde, rojo o amarillo. El color refleja el grosor y empaquetamiento de las fibras de colágena porque cada fibra absorbe diferentes cantidades de luz polarizada dependiendo de la orientación de las fibras. La colágena es birrefringente, por lo que esta tinción es usada para determinar la organización de la colágena y su microestructura. La degradación de la colágena en patologías resulta en la desorganización y pérdida de la sensibilidad de la polaridad, siendo un indicio del progreso de la enfermedad. Las fibras delgadas o finas que son verdes a amarillo verdoso muestran colágena tipo III. Las fibras más gruesas o densas que van de amarillo-naranja a rojo-naranja indican colágena tipo I. El color verde a amarillo verdoso tanto en fibras delgadas como gruesas indica que la colágena está poco empacada y el color rojo-naranja se origina de las fibras gruesas empacadas (10). Con respecto al menisco control se observó una birrefringencia color verde oscuro y fibras organizadas en color amarillo oscuro. Estas fibras se observaron delgadas lo que indica que están empaquetadas, con poca birrefringencia y predominio de colágena tipo I característica del menisco normal (ver figura 4). Con respecto al grupo de menisectomía por daño al LCA se observó en general fibras de colágena en núcleos y fragmentada, con áreas mucinosas y cavidades. El color predominante fue el verde con un indicativo de fibras gruesas de colágena tipo III. Interesantemente en uno de los meniscos el color fue amarillo (colágena tipo I) y en la zona más dañada se observó color verde con abundancia de colágena tipo III. En el grupo de menisectomía aislada se observaron fibras gruesas de colágena, discontinuas, con núcleos y fragmentadas. Con respecto a la homogeneidad fue más bien heterogénea con áreas mucinosas y cavidades. Los colores predominantes en éste grupo fueron el amarillo, naranja y rojo, con predominancia de colágena tipo I. Con respecto al grupo de menisectomía degenerativa los resultados fueron muy variables desde una morfología continua hasta una fragmentada, con respecto a la homogeneidad fueron desde homogénea hasta presencia de cavidades y áreas mucinosas. Con respecto a la presencia de color fue predominante el verde con un paciente que presentó fibras con

color amarillo-naranja-rojo. Esto indica predominancia de fibras gruesas de colágena tipo III y poca colágena tipo I. Ver tabla 5.

**TABLA 5. VALORES HISTOLÓGICOS CON TINCIÓN DE ROJO PICROSIRIO.**

MENISECTOMÍA	MORFOLOGÍA	HOMOGENEIDAD	TOTAL ROJO PICROSIRIO	COLOR	COLÁGENA PREDOMINANTE
LCA	3	3	6	verde	III
LCA	4	3,4	11	verde	III
LCA	3,4	3,4	14	amarillo y verde en zona dañada	I Y III
AISLADA	3	2	5	rojo-naranja	I
AISLADA	2,3	3	8	rojo-naranja	I
AISLADA	3,4	3,4	14	amarillo	I
DEGENERATIVA	4	3,4	11	verde	III
DEGENERATIVA	1	1	2	verde	III
DEGENERATIVA	3,4	3,4	14	amarillo-naranja-rojo	I Y III

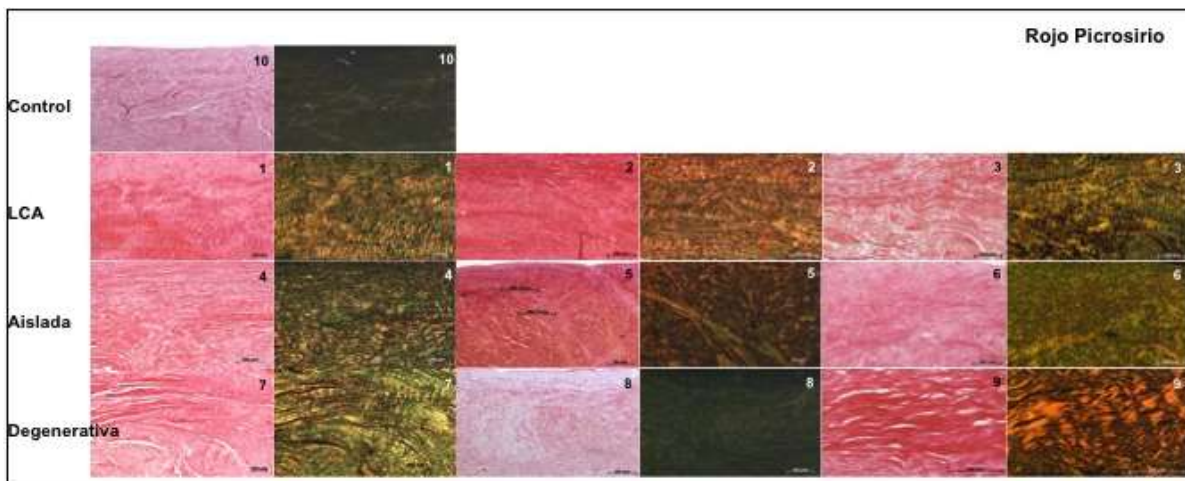


Figura 4. Evaluación histológica por tinción de rojo-picrosirio de muestras de meniscos con y sin daño de LCA y daño degenerativo. Se muestran en color rojo la tinción con rojo picrosirio de cada menisco estudiado y a lado la imagen en color la birrefringencia observada bajo luz polarizada. El menisco control muestra poca birrefringencia con color verde oscuro y fibras de colágena delgadas y organizadas en color amarillo. El menisco que muestra poca birrefringencia con fibras continuas y homogéneas pero con color verde se muestra en la foto 8. Las fotos 1-9 excepto la 8 muestran en general núcleos de colágena fragmentada con heterogeneidad en sus fibras, núcleos, áreas mucinosas y cavidades. La predominancia varía desde verde, amarillo verdoso y hasta el naranja-rojo. 20X. No se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos estudiados.

**Análisis Inmunohistoquímico de la Presencia de Vasos Sanguíneos**

El menisco tiene una zona superficial vascular y una zona interna avascular. Durante procesos degenerativos como la OA se ha descrito un aumento en la vascularización tanto del menisco como del cartílago. Se ha reportado que el aumento en la vascularización impide que haya una regeneración normal y una adecuada reparación de los tejidos, por esta razón se llevo a cabo una inmunohistoquímica usando el anticuerpo CD34 como marcador de la presencia de vasos sanguíneos. La presencia de vasos sanguíneos en el menisco normal está presente solamente en la zona superficial, mientras que la zona interna del menisco no presenta señal de CD34. En el grupo de menisectomía por daño al LCA se observó una heterogeneidad en los resultados, dos de los pacientes no hubo presencia de vasos sanguíneos en las muestras de menisco, mientras que en uno de ellos se encontró muy vascularizado. Con respecto al grupo de menisectomía aislada fue muy similar al grupo anterior porque dos de los pacientes no se encontró señal para CD34, y uno de ellos solo presentó señal a CD34 en la zona periférica, pero fue poco abundante. Con respecto al grupo de menisectomía por daño degenerativo en la mayoría de los meniscos estudiados no presento señal para CD34 indicando la ausencia de vasos sanguíneos (ver tabla 6). Solo un paciente con menisectomía con LCA presentó una alta vascularización y uno con menisectomía aislada presentó vasos sanguíneos en la periferia. No hubo diferencias significativas en cuanto a la presencia de vasos sanguíneos entre los tres grupos. (ver figura 5).

**TABLA 6. EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA O AUSENCIA DE VASOS SANGUÍNEOS USANDO LA PRESENCIA O AUSENCIA DE CD34.**

MENISECTOMÍA	CD34
LCA	Muy vascularizado
LCA	No hay vasos
LCA	No hay vasos
AISLADA	Solo hay en la periferia
AISLADA	No hay vasos
AISLADA	No hay vasos
DEGENERATIVA	No hay vasos
DEGENERATIVA	No hay vasos
DEGENERATIVA	No hay vasos

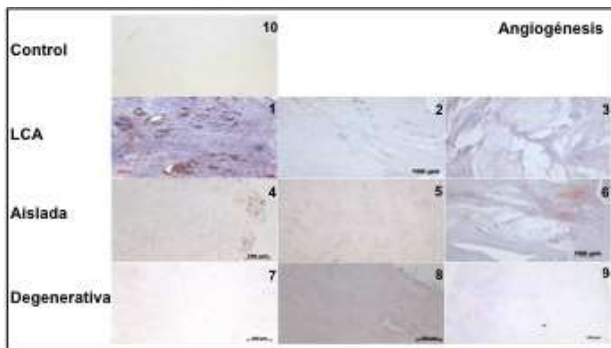


Figura 5. Evaluación inmunológica usando un anticuerpo CD34 para detectar la presencia o ausencia de vasos sanguíneos en muestras de meniscos con y sin daño de LCA y daño degenerativo. Se muestra la presencia de vasos sanguíneos en periferia y ausencia en la región interna en menisco control 10. Se muestra la ausencia de señal para CD34 en 2, 3, 5, 6, 7,8 y 9. Señal solo en periferia en 4 y vascularización alta en 1. 20X.

**DISCUSIÓN**



El menisco juega un papel muy importante en la distribución de carga y absorción del choque en la articulación de la rodilla. Rodillas sanas pueden desarrollar OA debido a desgarres meniscales y la prevalencia a largo plazo de OA incrementa si existe una lesión del LCA. Pocos trabajos han descrito los cambios degenerativos del menisco en la articulación de la rodilla después de sufrir menisectomía (11, 12). Hasta el momento no hay algún estudio histopatológico entre el desgarre del LCA y del menisco.

Aunque no se encontraron diferencias significativas entre cada uno de los valores estudiados se encontraron algunas características que parecen ser específicas de cada menisectomía estudiada. Todos los pacientes acudieron a la clínica por dolor general y la mayoría por bloqueo de movilidad de la rodilla derecha. La menisectomía degenerativa tuvo en promedio mayor tiempo de lesión antes de la cirugía siendo mayor (6 años) en los pacientes más jóvenes (26 y 29 años), que en el paciente de 49 años (1 año). Los pacientes de menisectomía aislada fueron los que tuvieron un menor tiempo de lesión (5 meses) hasta la cirugía. Con respecto a la edad o al IMC tampoco hubo diferencias significativas. Con respecto a los estudios histológicos, no se observaron cambios significativos entre cada una de las menisectomías estudiadas pero sí entre las diferentes tinciones. Esta diferencia se encontró para la tinción de azul alciano con una  $p > 0.05$ . En la menisectomía con LCA todos los pacientes mostraron una disminución en la tinción lo que significa una mayor degeneración en estos meniscos con una fuerte disminución en la cantidad de proteoglicanos en comparación con las menisectomías aislada o degenerativa. Estos resultados son muy similares a lo observado con azul de toluidina y safranina-O en donde la tinción va de disminución intensa a ausente para el grupo de menisectomía con LCA en comparación con menisectomía sin LCA y menisectomía degenerativa. Para todas las tinciones, los valores obtenidos entre los grupos de menisectomía aislada y degenerativa fueron muy similares (11). Con respecto a la tinción de rojo picosirio se observaron diferentes colores. El color observado es influenciado por el alineamiento de las fibras de colágena, con su diámetro y la densidad de empaquetamiento. La degradación de la colágena en diferentes patologías da como resultado la desorganización y pérdida de la sensibilidad a la polarización (9, 10, 12). En éste estudio se observaron algunos cambios en las diferentes menisectomías estudiadas aunque no fueron significativas. Los cambios de polarización de fibras de colágena fueron similares en menisectomía LCA y degenerativa con predominancia del color verde y colágenas tipo I y III. El grupo de menisectomía aislada presentó colores entre rojo-naranja y amarillo con predominancia de colágena tipo I. Se observó una mayor desorganización de la matriz en menisectomía con LCA en comparación con las otras dos menisectomías, siendo la aislada y la degenerativa muy similares. Los colores de polarización de las fibras de colágena en un proceso fibrótico muestran que el contenido de proteoglicanos cambia, hay deshidratación y aumentan los entrecruzamientos y por lo tanto el grosor de las fibras. Todos estos factores aumentan la intensidad de la birrefringencia y al mismo tiempo cambian los colores de la polarización. Por lo tanto fibras de colágena delgadas y jóvenes tipo I con poca birrefringencia aparecen como verdes en color similar a las fibras tipo III maduras. Las fibras muy maduras se ven de color naranja o rojo. Con respecto a los resultados de evaluación inmunohistoquímica no se observó presencia de vasos sanguíneos por la señal obtenida con CD34 en los tres grupos de menisectomía estudiados. Excepto un menisco con daño al LCA y uno de menisectomía aislada. Aún cuando al inicio del daño osteoartístico se ha descrito un aumento en la vascularidad, es muy probable que por los tiempos de lesión tan grandes esta vascularidad haya disminuido y por lo tanto una posible reparación al inicio del daño al menisco. Estos resultados están asociados con la degeneración del menisco articular el cual invariablemente progresa desde el centro a la superficie (13, 14).

Múltiples estudios han mostrado que aunque el desgarre meniscal puede ocurrir al mismo tiempo que la ruptura del LCA, la velocidad del daño meniscal aumenta después de la ruptura del LCA. Existe evidencia que sugiere que el daño al menisco se puede prevenir con la reconstrucción del LCA. En ausencia de un LCA funcional, la carga dinámica y la estática de fuerzas a través de la rodilla se altera provocando un aumento en las fuerzas aplicadas al cartílago articular el cual puede iniciar y continuar con el progreso de la OA. Aún después de la reconstrucción del LCA es posible que avance el cambio degenerativo. Considerando el impacto del daño del LCA en la estructura del menisco es difícil comparar solo algunos pacientes. Los resultados obtenidos no muestran

diferencias claras significativas aunado a las grandes diferencias en tiempos de cirugía y edad. El tiempo de cirugía tiene un gran impacto sobre el desarrollo degenerativo del menisco y del mismo LCA. La menisectomía al momento de la reconstrucción del LCA incrementa el desarrollo de la OA y con el retardo de la cirugía aumenta el daño meniscal y la estabilidad de las rodilla (6). Se necesitan futuros estudios con mayor número de pacientes para un mejor análisis y reducir la variabilidad.

## CONCLUSIONES

En este estudio se mostró que la presencia de una lesión en el LCA se asocia a una mayor disrupción de la matriz del menisco, con menor celularidad y una significativa disminución en la cantidad de proteoglicanos y aumento en las áreas mucinosas. Los resultados obtenidos entre la menisectomía aislada y la degenerativa son muy similares. El inicio y el progreso de la degeneración del menisco difiere en muchos aspectos de la lesión y el tiempo de la lesión del LCA. Desgarros del LCA provocan en un inicio daño degenerativo articular de la rodilla. La atención adecuada del daño al LCA puede provocar un efecto positivo en la preservación sana del menisco.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Eleftherios A, Makris MD, Pasha Hadidi BS, and Kyriacos A Athanasiou PH. The knee meniscus: structure-function, pathophysiology, current repair techniques, and prospects for regeneration. *Biomaterials*. 2011; 32(30): 7411–7431.
- 2.- Karola Messner and Jizong Gao. The menisci of the knee joint. Anatomical and functional characteristics, and a rationale for clinical treatment. *J. Anat.* 1998; 193: 161–178.
- 3.- Magnussen RA, Mansour AA, Carey JJ, and Spindler KP. Meniscus status at anterior cruciate ligament reconstruction is associated with the presence of radiographic signs of osteoarthritis at 5–10 year follow-up: a systematic review. *J Knee Surg*. 2009; 22(4): 347–357.
- 4.- Arner JW, Irvine JN, Zheng L, Gale T, Thorhauer E, Hankins M, Abebe E, Tashman S, Zhang X and Harner C. The effects of anterior cruciate ligament deficiency on the meniscus and articular cartilage. A novel dynamic in vitro pilot study. *The Orthop. J Sports Med*. 2016; 4(4): 1-8.
- 5.- Deledda D, Rosso F, Cottino U, Bonasia DE, Rossi R. Results of meniscectomy and meniscal repair in anterior cruciate ligament reconstruction. *Joints*. 2015; 3(3): 151-157.
- 6.- Noyes FR, Barber-Westin SD. Treatment of meniscus tears during anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy*. 2012; 28(1): 123-30.
- 7.- Sun Y, Mauerhan DR, Kneisl JS, Norton HJ, Zinchenko N, Ingram J, Hanley Jr EN and Gruber H. Histological examination of collagen and proteoglycan changes in osteoarthritic menisci. *The Open Rheumatol. J*. 2012; 6: 24-32.
- 8.- Le Graverand MPH, Ou Y, Schield-Yee T, Barclay L, Hart D, Natsume T and Rattner JB. The cells of the rabbit meniscus: their arrangement, interrelationship, morphological variations and cytoarchitecture. *J. Anat.* 2001; 198: 525–535.
- 9.- Montes GS and Junquiera LCU. The use of the picosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 1991; 86, Suppl. III: 1-11.
- 10.- Lattouf R, Younes R, Lutomski D, Naaman N, Godeau G, Senni, Changotade. Picosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. *J. Histochem. Cytochem.* 2001; 62(10): 751-8.
- 11.- Fuhrmann IK, Steinhagen J, Rütther W, Chusmache U. Comparative immunohistochemical evaluation of the zonal distribution of extracellular matrix and inflammation markers in human meniscus in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Acta Histoche.* 2015; 117(3): 243-54.
- 12.- Velidandla S, Gaikwad O, Kiran K, Ealla R, Bhorgonde K, Hunsingi P, Kumar A. Histochemical analysis of polarizing colors of collagen using picosirius red staining in oral. *J. Int. Oral Health* 2014; 6(1): 33-38.
- 13.- Hetsroni I, Manor A, Finsterbush A, Lowe J, Mann G, Palmanovich E. Reduced anterior cruciate ligament vascularization is associated with chondral knee lesions. *Orthopedics*. 2016; 25: 1-7.

14.- Saito M, Sasho T, Yamaguchi S, Ikegawa N, Akagi R, Muramatsu Y, Mukoyama Y, Ochiai N, Nakamura J, Nakagawa K, Nakajima A, Takahashi K. Angiogenic activity of subchondral bone during the progression of osteoarthritis in a rabbit anterior cruciate ligament transection model. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2012; 1e9.

**Agradecimientos.** Este trabajo fue realizado gracias al apoyo de Sectoriales CONACyT-Salud no. 2008-01-87844. Mexico. Ing. Carlos Linares del Inst. Geofísica de la UNAM por el apoyo con el microscopio con luz polarizada y Tec. Xóchitl Guerrero Alva por su apoyo técnico.

**OPTIMIZACIÓN DE UN MEDIO DE MONTAJE PARA MICROSCOPIA DE ALTA RESOLUCIÓN.**

Milvia Iris Alata Tejedo<sup>1</sup>, Juan Carlos Martínez Cervantes<sup>1</sup>, Mario Alejandro Rodríguez Rivera<sup>1</sup>, Julio Cesar Armas Pérez<sup>2</sup> y Valeria Piazza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones en Óptica, A. C.

<sup>2</sup>Universidad de Guanajuato, División de Ciencias e Ingenierías, DIQEB.

**Resumen:**

En la microscopía óptica de alta resolución, la configuración ideal del sistema incluye, entre otras características técnicas, un índice de refracción homogéneo en el espacio objeto. Para quienes preparan muestras biológicas esto implica preparar el espécimen en laminillas incrustado en una sustancia llamada medio de montaje cuyo índice de refracción sea lo más cercano posible al del vidrio usado como soporte. Un medio de montaje ideal debe tener un índice de refracción alto, ser soluble en agua para permitir la graduación de este índice, no ser tóxico y ser compatible con los fluoróforos comerciales. 2, 2'-thiodiethanol (TDE) ha sido propuesto como medio de montaje para microscopía de alta resolución por cumplir con estas características, sin embargo TDE no es compatible con los fluoróforos conjugados a faloidina, los que representan el sistema universalmente más eficiente y popular para marcar los filamentos de actina en células y tejidos. Nuestro objetivo es optimizar el TDE como medio de montaje, buscando modificaciones a su estructura química a fin de que sea compatible con el uso de tinciones basadas en faloidina. Seleccionamos entre algunos candidatos que cumplan las especificaciones. A la par realizamos simulaciones moleculares para individualizar la causa del aparente desplazamiento de faloidina en su enlace con actina. Estas simulaciones permitirán direccionar y restringir la búsqueda de candidatos.

**Introducción:**

Tres aspectos claves para quienes estudian la localización de estructuras biológicas a nivel celular y sub-celular usando microscopía confocal son: resolución, intensidad de la señal y razón señal ruido. La diferencia entre índices de refracción del sistema óptico puede afectarlos; por este motivo el diseño de sistemas ópticos ha evolucionado hacia las lentes de inmersión de aceite que procuran

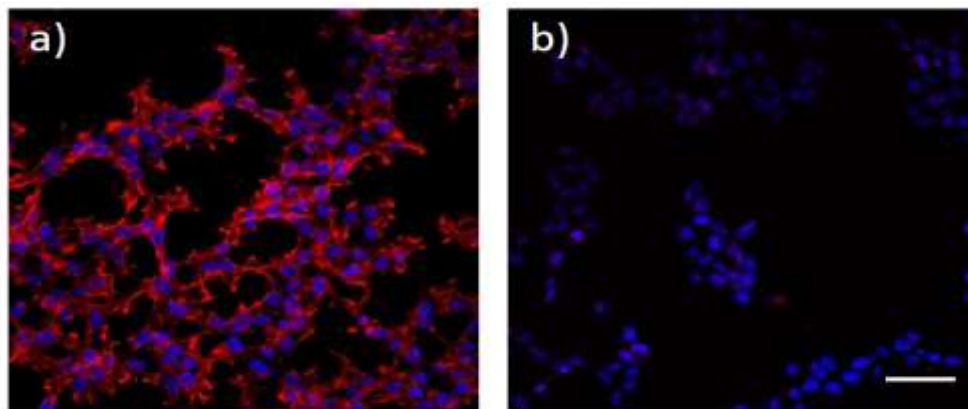


Figura 1: Células HEK teñidas con DAPI (núcleos) y AlexaFluor 647-faloidina y a) montadas en Prolong Diamond, y b) montadas en TDE.

Un espacio objeto homogéneo hasta el cubreobjetos. Un aspecto crítico se encuentra en desarrollar medios de montaje compatibles con muestras biológicas y sus tinciones, cuyo índice de refracción sea igual al del cubreobjetos y el aceite de inmersión. El objetivo del trabajo es buscar, encontrar y analizar modificaciones químicas de la molécula TDE que se puedan usar como medio de montaje de laminillas para microscopía de fluorescencia que incluyan marcaje con faloidina conjugada. La faloidina es una molécula de origen natural que tiene especificidad muy alta para los filamentos de actina en células; tal especificidad se aprovecha conjugando faloidina a fluoróforos y así logrando un marcaje directo de las estructuras de actina en preparaciones para la microscopía de fluorescencia. Ampliamente usada en laboratorios de biología donde se realizan tinciones, la faloidina conjugada resulta ser incompatible con el uso de TDE como medio de montaje. TDE tiene excelentes características ópticas, pero al entrar en contacto con faloidina aparentemente la desplaza de su enlace con actina, destruyendo la localización de la señal fluorescente (Figura 1).

Encontrar una modificación química de TDE que funcione también con faloidina sería de gran relevancia para el ambiente de la microscopía de fluorescencia. Se lograría unir las ventajas de los dos químicos, el medio de montaje (TDE modificado) y la faloidina conjugada: de un lado, alto índice de refracción modulable con la dilución, mezclable con agua en todas proporciones, estabilidad, transparencia, limitada reducción de fluorescencia, efecto reductivo “antifade” y precio moderado; del otro, alta especificidad, no “background” generado por actina monomérica, protocolo eficiente, señal más homogénea de la que se puede obtener con inmunomarcaje.

### TEORÍA:

La microscopía óptica confocal es una técnica que permite incrementar el contraste de la imagen obtenida al restringir el volumen observado mejorando la resolución de la imagen en comparación a la microscopía convencional. Además, la capacidad de seccionamiento de un microscopio confocal permite obtener la estructura tridimensional de un espécimen. En microscopía confocal de fluorescencia se obtiene una imagen a partir de una fuente de luz casi puntual en un espécimen transparente preparado con un marcador fluorescente. La luz que proviene del espécimen es enfocada en un detector puntual que se ubica simétrico a la fuente [1].

Los objetivos de microscopio para obtención de imágenes de alta resolución tienden a tener apertura numérica (NA) cada vez más alta, debido a que la resolución lateral decrece linealmente con la NA y la axial decrece de manera cuadrática con la NA. La NA depende del semiángulo de cono de luz ( $\alpha$ ) que acepta el objetivo y del índice de refracción ( $n$ ) del espacio objeto, motivo por el cual es deseable  $\alpha$  y  $n$  tan altos como sea posible.

$$NA = n \sin \alpha \quad (1)$$

No obstante este último se ve restringido ya que las muestras biológicas comúnmente son montadas en cubreobjetos de vidrio que poseen  $n = 1.518$ . Para mantener la homogeneidad en el espacio objeto con respecto al  $n$ , el sistema aceite de inmersión ( $n = 1.518$ ) y vidrio es el ideal. Sin embargo si el frente de onda esférico convergente es enfocado en una muestra con  $n$  diferente el punto focal será afectado por aberración esférica [2]. Más aún mientras mayor NA, mayor será el efecto de aberración esférica debido a diferencias entre  $n$ .

Un efecto negativo de la diferencia entre  $n$  del medio de inmersión de la lente y el medio de montaje tiene como consecuencia que el movimiento del plano focal en el espécimen no sigue necesariamente el movimiento del objetivo al adquirir secciones ópticas en z del espécimen. Por ejemplo, si  $n$  del medio de inmersión de la lente es mayor que el del medio de montaje del espécimen, la distancia que el plano focal avanza en el espécimen en la dirección axial es menor

que el movimiento axial del objetivo. Como consecuencia la extensión axial del espécimen será sobreestimada.[3]

Para la visualización de células animales se debe tener en cuenta que no sólo son microscópicas sino también incoloras y transparentes por lo tanto para diferenciar sus estructuras se requiere generar contraste entre ellas, este puede obtenerse implementando sistemas ópticos o a través de tinciones. En las tinciones se usan marcadores de estructuras celulares que pueden ser proteínas fluorescentes, anticuerpos y colorantes químicos que tiene afinidad para diversas estructuras celulares.

Tinción del citoesqueleto de actina.

El citoesqueleto es una estructura que ayuda a mantener la forma de la célula y su organización interna, que además provee soporte mecánico y permite funciones esenciales como división celular y movimiento. Está constituido por proteínas del citoplasma que polimerizan en estructuras filamentosas: microfilamentos que contienen actina, microtúbulos que contienen tubulina y filamentos intermedios que contienen proteínas como queratina. Los microfilamentos miden 7 nm de diámetro, los microtúbulos 25 nm y los filamentos intermedios están en un rango entre 8 y 12 nm [4].

La actina es una de las proteínas más abundantes entre los eucariotas y se encuentra presente en todo el citoplasma. La actina se presenta en la célula en dos formas: como monómeros globulares denominados actina G y como polímeros filamentosos denominados actina F (microfilamentos). El citoesqueleto de actina es una red de filamentos dinámicos cuya formación y remodelación es un proceso fundamental de la movilidad y determinación de la forma celular [5].

En varios campos de investigación biomédica la visualización confiable del citoesqueleto de actina es esencial. En células vivas las estructuras de actina son visualizadas incorporando actina fluorescente, expresando actina con proteínas fluorescentes, o una proteína fluorescente que se une a actina. La actina fluorescente proporciona un marcaje exacto de las estructuras de actina, sin embargo su inserción en la célula puede ser difícil, lo que se consigue por microinyección o un reactivo para transfección de proteínas. Una nueva opción es SiR-Actin una molécula basada en Silicon Rodamina que es permeable a la célula [6]. Otra alternativa, llamada Lifeact, es un péptido de 17 amino ácidos que marca los filamentos de actina en células vivas y que no interfiere en la dinámica molecular [7]. La modificación química de este péptido reportada para tinciones en células fijadas no está disponible en el mercado.

En células fijadas, los filamentos de actina pueden ser visualizados usando anticuerpos, faloidinas fluorescentes o directamente usando microscopía electrónica. Las falotoxinas son un grupo de heptapéptidos bicíclicos del hongo venenoso amanita phalloides [8]. El mayor representante de este grupo es la faloidina, la cual se une a los filamentos de actina y no se une a actina globular a diferencia de los anticuerpos anti actina [9]. Las falotoxinas poseen ventajas sobre los anticuerpos para marcar actina, entre estas que sus propiedades de "enlace" no cambian apreciablemente con actina de diferentes especies, incluyendo plantas y animales; y su marcaje inespecífico es despreciable por lo que el contraste entre áreas marcadas y no marcadas, es alto. En término de los protocolos el marcaje con faloidinas conjugadas es más rápido y eficiente que el marcaje con anticuerpos. Las proteínas fluorescentes se expresan en células vivas, no pueden ser usadas con todas las líneas celulares y la eficiencia del proceso puede no ser muy alta comparada a las falotoxinas.

Debido a que los derivados de falotoxinas son relativamente pequeños, entre 12 – 15 Å y pesos moleculares debajo de los 2000 daltons, una amplia variedad de proteínas vinculantes aún pueden adherirse a la actina luego de tratamiento con falotoxinas fluorescentes. Por estas razones el marcaje de células fijadas con faloidina conjugada es el método más usado para la tinción de células fijadas y es el estándar a cuanto a pruebas de nuevos marcadores de actina.

### Medios de montaje

Las muestras biológicas son preparadas usando un medio de montaje que ayude a preservar la morfología del espécimen y favorezca la toma de imágenes.

Es por esto que se requieren medios de montaje cuyo índice de refracción pueda ser controlado precisamente. El medio de montaje ideal debe ser miscible en agua en toda concentración, no ser tóxico, fácil de aplicar en muestras biológicas. Debe preservar las estructuras y no afectar la fluorescencia notablemente.

2-2 thiodiethanol (TDE), es un nuevo medio de montaje de reciente caracterización, cuyo índice de refracción se puede graduar al disolverse en agua, desde 1.33 hasta 1.52. Ofreciendo de esta manera una opción flexible para su uso con los diferentes lentes de inmersión disponibles [10].



Figura 2: Molécula de TDE.

Las moléculas butilsulfona (BS), 2,2'-sulfonyldiethanol (SDE), 3,3'-thiodipropanol (TDP) se han elegido como modificaciones químicas de TDE.

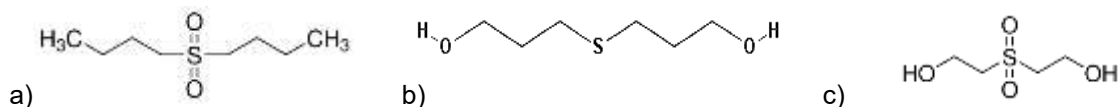


Figura 3: Moléculas de a) BS, b) SDE y c) TDP

### Simulaciones moleculares

Esta parte de la investigación se lleva a cabo bajo el marco de trabajo de la Mecánica Estadística, y empleando la descripción del sistema mediante simulaciones de Dinámica Molecular. Se utiliza el paquete de simulación numérica Gromacs, que es ampliamente empleado para efectuar esta clase de estudios, principalmente por su versatilidad y alto grado de paralelización. Gromacs permite calcular las energías potenciales, optimización geométrica y propiedades termodinámicas. Estas energías potenciales son calculadas mediante Gromos, un campo de fuerzas que ha sido optimizado para moléculas biológicas y permite ser parametrizado. Con esto se pueden establecer las propiedades fisicoquímicas y espaciales específicas para el sistema molecular. Los resultados esperados nos darán información cualitativa respecto a qué grupos funcionales son los responsables de la desestabilización de la interacción entre las moléculas propuestas, así como identificar si dicho fenómeno ya no se presenta al sustituir el medio solvatante (TDE) por otro candidato químico con características similares. Las simulaciones iniciales están enfocadas en el estudio de la interacción fluoróforo conjugado – medio.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Medición de índice de refracción

El índice de refracción de 2,2'-thiodiethanol (CAS 111-48-8, No. 166782 Sigma-Aldrich)) butilsulfona (CAS 598-04-9, No. B102202 Sigma Aldrich), 2,2'-sulfonyldiethanol (CAS 2580-77-0, No. 180084 Sigma Aldrich) y 3,3'-thiodipropanol (CAS 10595-09-2, No. 205346 Sigma Aldrich) se midió con un Refractómetro de Abbe (Edmund Optics, Barrington, U.S.A.). Con un rango de 1.300 a 1.700 nd.

usando una fuente de luz emitiendo en longitud de onda alrededor de 630 nm. Se prepararon soluciones de TDE, TDP y SDE, sin embargo BS viene en forma de cristales y no es soluble en agua [11] por lo cual fue descartado de entre los candidatos a medio de montaje.

#### Ajuste de pH

Inicialmente se usó el medidor de pH Jenway pH/mV Temperature Meter Model 3510 (Cole-Parmer, UK), sin embargo la viscosidad de los medios y la necesidad de trabajar con ellos en la mayor concentración posible (~100%) no permitió una lectura correcta de los valores. Por este motivo se optó por métodos alternativos para medir el pH como papel indicador de pH (Macherey Nagel) y un indicador cromométrico fenol red (No. P4758, Sigma Aldrich). TDE fue ajustado a un pH de 7.5 con 0.5 M NaOH.

#### Medición de los espectros de absorción y emisión

Los espectros de transmisión y emisión fueron medidos con el Espectrofotómetro Cytation 5 (Biotek, Vermont, U.S.A.), las suspensiones de los fluoróforos en TDE, TDP y PBS se depositaron en microplacas de 96 posillos (Corning Incorporated, NY, U.S.A.). Los fluoróforos usados son Alexa Fluor 488 phalloidin (Thermo Fisher Scientific, No A12379), Alexa Fluor 647 phalloidin (Thermo Fisher Scientific, No A22287) y DAPI (Thermo Fisher Scientific, No 62248).

#### Inmunocitoquímica

Se usaron dos líneas celulares HEK293 y SH-SY5Y. La línea HEK 293 fue cultivada en medio 89% DMEM, 10% FBS, 100 u/ml Pen Strep. La línea SH-SY5Y fue cultivada en medio DMEM-F12, 10% FBS, 100X Pen Strep

Las células se mantuvieron entre un 30% y 90% de confluencia en incubadora a 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Para la tinción las células se cultivaron en cubreobjetos a una confluencia de 50-80% y se fijaron con Formaldehído al 2% por 30 min. Fueron permeabilizadas con TritonX100 al 0.1% por 10 min. Se bloquearon en PBS, 10% FBS y 0.02% TritonX100 por 30 min.

Se enjuagaron con PBS y se incubaron con un anticuerpo primario policlonal de oveja anti tubulina (Cytoskeleton, No. ATN02). Luego de 1 h de incubación, se enjuagaron 3 veces en PBS por 10 minutos y se incubaron por 1 h con un anticuerpo secundario Mono anti oveja conjugado a Alexa Fluor 488 (Thermo Fisher Scientific, No. A-11015). La tinción del núcleo se realizó incubando las células por 10 minutos en presencia de DAPI (Thermo Fisher Scientific, No 62248).

La tinción de filamentos de actina se realizó incubando las células por 20 minutos con una de las faloidinas usadas ya sea Alexa Fluor 488 phalloidin (Thermo Fisher Scientific, No A12379), Alexa Fluor 647 phalloidin (Thermo Fisher Scientific, No A22287). Los cubreobjetos se montaron en tres medios distintos, Prolong Diamond Antifade (Thermo Fischer Scientific, No.P36961, TDE al 97% (pH 7.5) y TDP al 100% (pH 5). Antes de montar los cubreobjetos con TDE y TDP se realizaron tres incubaciones de cada uno al 10%, 25% y 50% durante 10 minutos cada una para intercambiar el contenido de agua con TDE gradualmente.

## RESULTADOS

Molécula	TDE	TDP	SDE
pH	5	5	4
N	1.5189	1.5060	1.4290

**Tabla 1** Valor de pH e índice de refracción originales de las moléculas.

El pH original de los candidatos se muestra en la tabla 1. El pH de TDE se ajustó a 7.5 con NaOH 0.5M. TDP se ha usado como medio de montaje con su pH original 5.

El índice de refracción presentado para TDE es menor que el reportado, esta diferencia es consecuencia de la longitud de onda de la fuente de luz usada para la medición (~630 nm). El valor



del índice de refracción del medio de montaje debe ser 1.518 para concordar con el del cubreobjetos, es por ese motivo que, de acuerdo a los requisitos planteados, SDE no es un buen candidato a medio de montaje

TDP presenta un índice de refracción ligeramente menor al esperado, sin embargo mayor al de medios de montaje comerciales ampliamente usados. Para verificar la posibilidad de ajustar el índice de refracción de TDP se prepararon diferentes concentraciones del mismo, la Figura 5 indica los índices de refracción obtenidos para diferentes concentraciones de TDE, TDP y SDE, respectivamente. Estas gráficas nos muestran que es posible ajustar precisamente el índice de refracción de los tres candidatos.

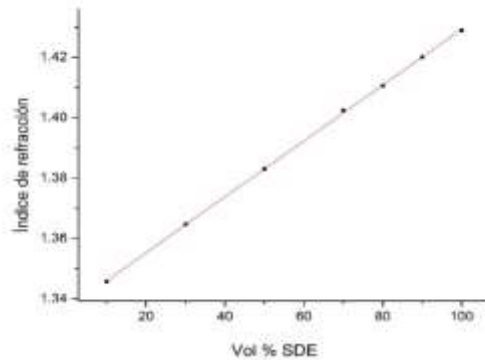
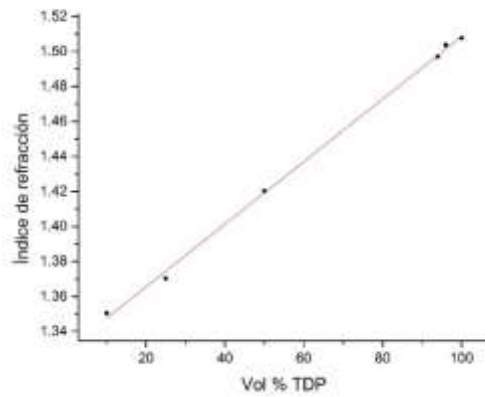
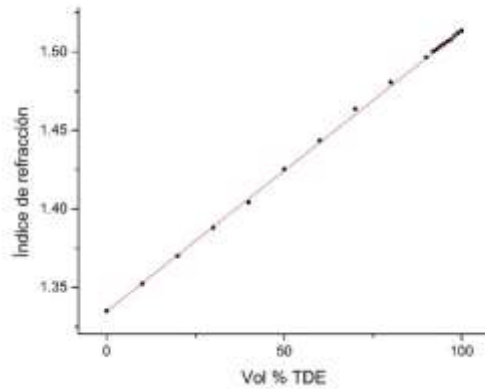


Figura 4: Ajuste lineal del Índice de Refracción ( $n$ ) respecto a la concentración ( [ ], %V) TDE, TDP y SDE

En la Figura 5 se reportan los espectros de absorción de los 3 fluoróforos analizados en TDE, TDP y en PBS. Elegimos realizar el espectro de referencia en PBS porque es el medio en que se caracterizan los fluoróforos en fábrica.

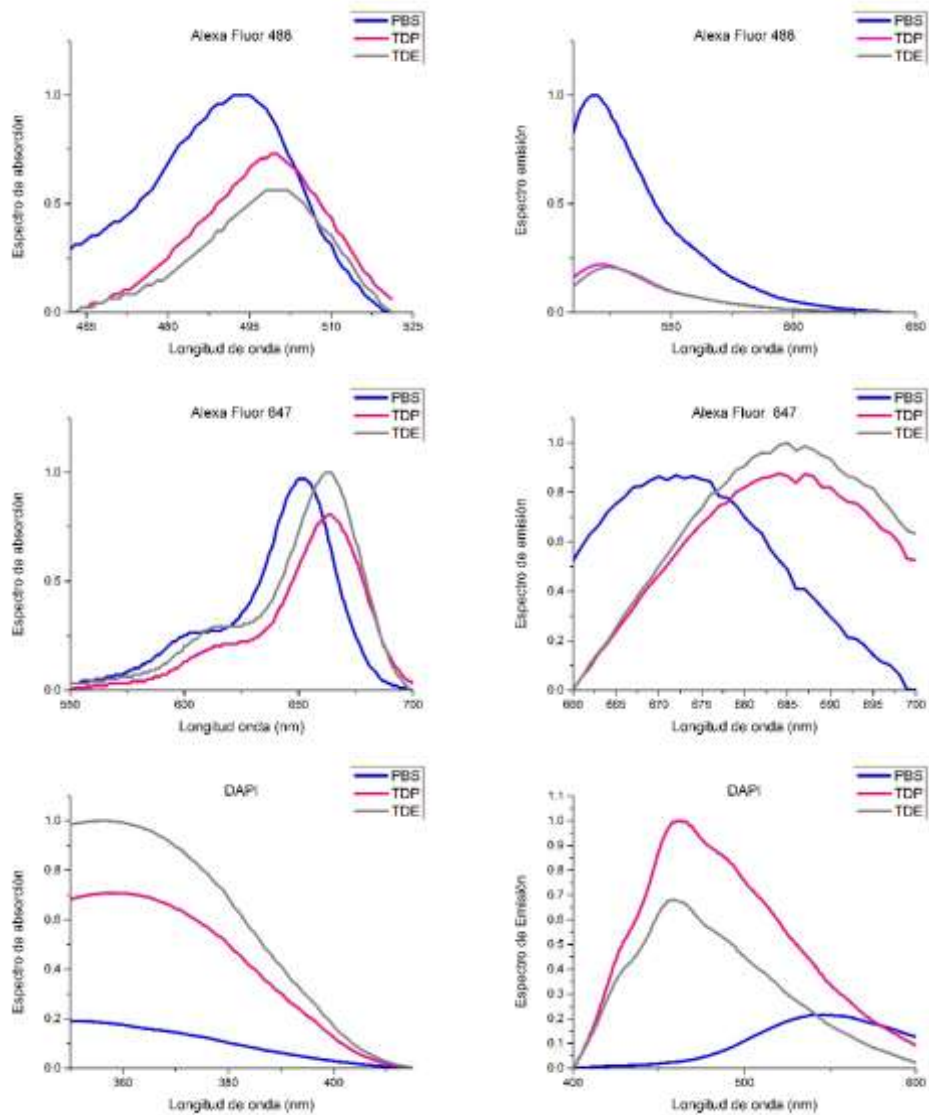


Figura 5: Espectros de absorción y emisión de DAPI, AlexaFluor 488 y AlexaFluor 647 en PBS (línea azul), TDE (línea gris) y TDP (línea rosa). Se ha normalizado a 1 solamente la curva con los valores más altos, se puede observar un ligero corrimiento de los máximos dependiente del medio de montaje. También para emisión se observó un corrimiento, aun si no en la misma dirección para todos los fluoróforos.

En la figura 6 se reportan las microfotografías de algunos de los experimentos realizados. Se puede observar cómo la fluorescencia de los fluoróforos se mantiene inalterada en el medio de

montaje comercial utilizado, Prolong Diamond; se desorganiza al usar TDE, confirmando su incompatibilidad con los fluoróforos conjugados a faloidina, y sorprendentemente se mantiene inalterada también a montar las laminillas en TDP, uno de los candidatos en estudio.

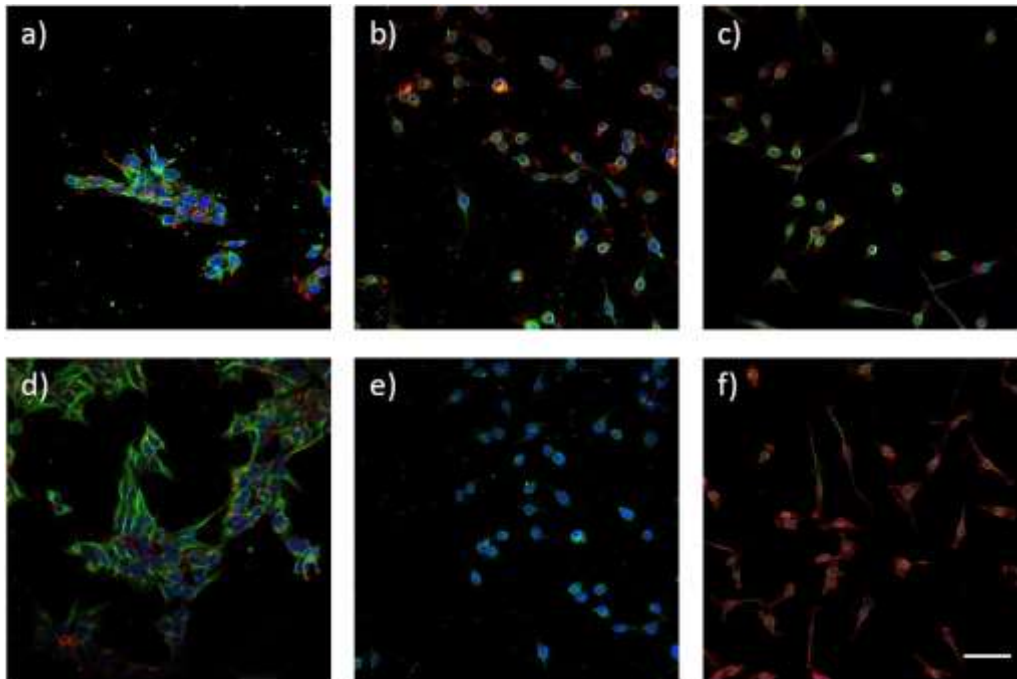


Figura 6 células Sh-sy5y teñidas con DAPI, AlexaFluor 488 anti tubulina y AlexaFluor 647-faloidina. Montadas en Prolong Diamond (a y d: respectivamente en el día de la preparación y después de 34 días). Montadas en TDE (b y e: respectivamente en el día de la preparación y después de 34 días). Montadas en TDP (c y f: respectivamente en el día de la preparación y después de 34 días). En TDP permanece inalterada la fluorescencia asociada a faloidina.

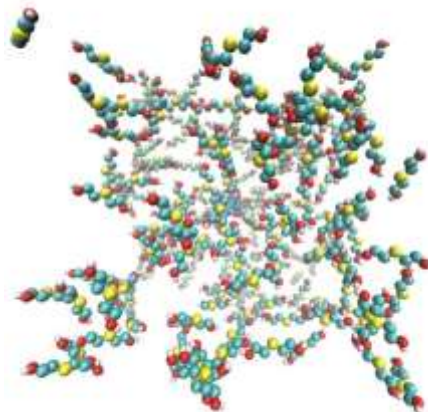


Figura 7 visualización de 200 moléculas de TDE y una de faloidina en el centro, por medio del software Visual Molecular Dynamics

#### CONCLUSIONES:

De los primeros tres candidatos analizados sólo TDP posee las características de potencial medio de montaje para microscopia de alta resolución al ser soluble en agua en todas las concentraciones, poseer un índice de refracción cercano al del vidrio y mantener la fluorescencia de los fluoróforos usados en este estudio. El valor de pH de este compuesto debe ser ajustado para mantener la fluorescencia de los marcadores fluorescentes que en general se encuentra alrededor de 7.5. Los fluoróforos Alexa Fluor son insensibles a pH entre 4-10 lo cual explica que se haya mantenido la fluorescencia de actina y tubulina marcadas con estos fluoróforos.

A partir de los resultados cualitativos de las simulaciones moleculares y de los datos adquiridos al usar las moléculas de TDE modificadas como medios de montaje se espera obtener información que explique el aparente desplazamiento de faloidina al usar TDE como medio de montaje. Información que será útil en la elección de candidatos a medios de montaje

#### **BIBLIOGRAFÍA:**

1. Webb, Robert H. "Confocal Optical Microscopy." *Reports on Progress in Physics* 59, no. 3 (1996): 427. doi:10.1088/0034-4885/59/3/003.
2. Hell, S., G. Reiner, C. Cremer, and E. H. K. Stelzer. "Aberrations in Confocal Fluorescence Microscopy Induced by Mismatches in Refractive Index." *Journal of Microscopy* 169, no. 3 (March 1, 1993): 391–405. doi:10.1111/j.1365-2818.1993.tb03315.x.
3. Visser, T. D., J. L. Oud, and G. J. Brakenhoff. "Refractive Index and Axial Distance Measurements in 3-D Microscopy." *Optik* 90, no. 1 (1992): 17–19.
4. Reece, Jane B, and Neil A. Campbell. *Campbell Biology*. Boston: Benjamin Cummings Pearson, 2011:113
5. Small, J.-Victor, Klemens Rottner, Penelope Hahne, and Kurt I. Anderson. "Visualising the Actin Cytoskeleton." *Microscopy Research and Technique* 47, no. 1 (October 1, 1999): 3–17. doi:10.1002/(SICI)1097-0029(19991001)47:1<3::AID-JEMT2>3.0.CO;2-2.
6. Wieland, T. "The Toxic Peptides from Amanita Mushrooms." *International Journal of Peptide and Protein Research* 22, no. 3 (September 1983): 257–76.
7. Lukinavičius, Gražvydas, Luc Reymond, Elisa D'Este, Anastasiya Masharina, Fabian Göttfert, Haisen Ta, Angelika Güther, et al. "Fluorogenic Probes for Live-Cell Imaging of the Cytoskeleton." *Nature Methods* 11, no. 7 (July 2014): 731–33. doi:10.1038/nmeth.2972.
8. Riedl, Julia, Alvaro H. Crevenna, Kai Kessenbrock, Jerry Haochen Yu, Dorothee Neukirchen, Michal Bista, Frank Bradke, et al. "Lifeact: A Versatile Marker to Visualize F-Actin." *Nature Methods* 5, no. 7 (July 2008): 605–7. doi:10.1038/nmeth.1220.
9. Enrique M. De La Cruz and Thomas D. Pollard. "Transient kinetic analysis of rhodamine phalloidin binding to actin filaments." *Biochemistry* 1994, 33, 14387-14392
10. Staudt, Thorsten, Marion C. Lang, Rebecca Medda, Johann Engelhardt, and Stefan W. Hell. "2,2'-thiodiethanol: A New Water Soluble Mounting Medium for High Resolution Optical Microscopy." *Microscopy Research and Technique* 70, no. 1 (January 2007): 1–9. doi:10.1002/jemt.20396.
11. CRC Handbook of chemistry and physics 84th ed. Crc Press Boca Raton, FL, 2003-2004; p 3-164.

## PHYSIC OF MIND

María Guadalupe Aguilar Espinosa, Rocío Rubio Rivera, Guillermo Caballero Tinajero

<sup>1</sup>Escuela de Nivel Medio Superior de Salvatierra, Universidad de Guanajuato

### RESUMEN

En la ENMS SALVATIERRA, en la materia de Física I, incluida en el Programa de Estudios de Tercer semestre, se presenta un promedio de reprobación de más del 30%, la mayor incidencia se presenta en el bloque del tema de "Tiro parabólico". Las principales causas, citadas por parte de los alumnos y el maestro son: Desinterés por la materia, Alto grado de dificultad, Problemas al manejar las fórmulas, Falta de comprensión del tema, porque se relaciona con otros más. Así mismo se observa el uso permanente de las TIC, principalmente en aplicaciones móviles para los Smartphone o tabletas. Derivado de lo anterior es que se plantea una hipótesis ¿Una aplicación móvil coadyuvaría a la comprensión del tema de tiro parabólico en la materia de Física I, mejorando el desempeño académico?

Para poder responder la hipótesis, se procede a diseñar y desarrollar una aplicación móvil para Android y una vez terminada se les da a utilizar a los alumnos, dando un seguimiento particular a aquellos que salieron reprobados en el bloque mencionado.

Como conclusión se puede decir que fue aceptable, ya que su interfaz es amigable, fácil de entender, así como su enfoque específico al tema de Tiro Parabólico apegado a nuestro Programa de estudios, apoyando a nuestros alumnos en la comprensión del manejo del tema de Tiro Parabólico y mejorando su desempeño académico, del porcentaje de alumnos reprobados en el tema, disminuyó considerablemente al 5%.

### Introducción

Desde hace tiempo se pronosticaba, como lo menciona Castillo, A. (2012) "que las tecnologías móviles serían ampliamente utilizadas y se convertirían en plataformas de uso de aplicaciones diversas de acuerdo al ámbito de acción de sus usuarios.", si bien es cierto que pueden utilizarse en forma negativa, también sirven para lo contrario. Tal es el caso para este proyecto, tomando en cuenta que las instituciones educativas de todos los niveles presentan diversas problemáticas, una de ellas enfocada a que el estudiante tenga un aprendizaje significativo.

Los docentes del Escuela de Nivel Medio Superior de Salvatierra (ENMSS) preocupados por este tipo de problemáticas nos hemos dado a la tarea de proponer prototipos que puedan funcionar como alternativas o herramientas adicionales dentro y fuera del aula, en este caso presentamos la propuesta del prototipo didáctico Physic of mind, que puede utilizarse tanto para que los alumnos aprendan conceptos de la asignatura. Formulas, cálculos y simuladores en el tema de tiro parabólico en la materia de Física I.

El desarrollo del presente trabajo se describe a continuación: consta del planteamiento del problema, donde se explica con detalle la problemática de la ENMSS en cuanto a la situación de aprendizaje en el tema de Tiro parabólico, de la materia de Física I, así como el uso de la aplicación Physic of mind como herramienta de apoyo al aprendizaje en este tema complejo que los estudiantes de 3 "G". Los recursos informáticos empleados son: Dispositivo móvil (celular o tablet) con sistema operativo Android, Laptop, Lenguaje de programación Java, Plataforma Eclipse ADT, este último es un entorno de desarrollo integrado, de Código abierto y Multiplataforma.

A continuación se encuentra la justificación, por la cuál es importante realizar este trabajo y en donde se menciona a quienes beneficiarán los resultados obtenidos, después se encuentra el objetivo general y los particulares que se persiguen al planteamiento del problema, enseguida se encuentran: el marco teórico donde se explican las teorías que fundamentan esta propuesta, la descripción del nivel de innovación donde se incluyen diagramas y esquemas además del desarrollo y aplicación del prototipo.

Posteriormente en cuanto a los resultados se incluye la presentación de datos obtenidos, los cuales se explican en su análisis, siguen las conclusiones, donde definitivamente se decide si los objetivos se lograron; dichas conclusiones permiten realizar recomendaciones para posteriores trabajos.

Con la utilización de la aplicación propuesta, se espera terminar con un prototipo didáctico que a corto plazo permita que los alumnos de la ENMSS adopten como herramienta de apoyo para el aprendizaje.

## TEORÍA

### Objetivos

Desarrollar una aplicación móvil en plataforma Android para el Aprendizaje del Tema de Tiro Parabólico, incluyendo:

1. Definición
2. Formulario
3. Cálculos
4. Simulador de internet

**Hipótesis o meta de ingeniería** (según el caso)

### De Trabajo

**Hi** = A través de que los estudiantes de 3° "G" que cursan la asignatura Física I de la ENMS SALVATIERRA, que utilicen la Aplicación Android: Physic of mind en sus celulares o tablets, se incidirá en el logro de la competencia "Escucha, interpreta y emite mensajes pertinentes en distintos contextos mediante la utilización de medios, códigos y herramientas apropiados.", que aparece en el programa de estudios de Física I en el plan de estudios 2010.

### 1.3.2 Nula

**Ho** = A través de que los estudiantes de 3° "G" que cursan la asignatura Física I de la ENMS SALVATIERRA, que utilicen la Aplicación Android: Physic of mind en sus celulares o tablets, NO se incidirá en el logro de la competencia "Escucha, interpreta y emite mensajes pertinentes en distintos contextos mediante la utilización de medios, códigos y herramientas apropiados.", que aparece en el programa de estudios de Física I en el plan de estudios 2010.

### 1.3.3 Alternativa

**Ha** = A través de que los estudiantes de 3° "G" que cursan la asignatura Física I de la ENMS SALVATIERRA, que utilicen la Aplicación Android: Physic of mind en sus celulares o tablets, se incidirá parcialmente en el logro de la competencia "Escucha, interpreta y emite mensajes pertinentes en distintos contextos mediante la utilización de medios, códigos y herramientas apropiados.", que aparece en el programa de estudios de Física I en el plan de estudios 2010.

### Materiales y métodos

Se utilizará una metodología de observación en donde participan los alumnos de 3G, los cuales utilizarán la aplicación móvil en la materia de física I en el tema Tiro Parabólico.

Los materiales a usar serán distintos, por lo que se refiere a:

### Uso de la aplicación

1. Dispositivo móvil (teléfono o Tablet)
2. APK Physic of mind

### Desarrollo de la Aplicación

1. Droid Draw
2. Eclipse ADT
3. Lenguaje Java

**PARTE EXPERIMENTAL**

Para realizar el proceso, nos reunimos con uno de los docentes de la materia de física del grupo de 3G, ya que es el que presentaba mayor índice de reprobación de los 7 grupos de ese grado, así como algunos de los alumnos que tenían bajo desempeño y alto desempeño. Lo anterior con el objeto de establecer el contenido mínimo necesario para la aplicación.

Una vez definido el prototipo se comenzó a trabajar en el desarrollo de la misma.

Toda vez concluida la aplicación nos volvimos a reunir con los alumnos citados anteriormente para que probaran la aplicación y nos mencionaran acerca de su utilización.

Posteriormente los alumnos que estaban utilizando la aplicación, fueron sometidos a una evaluación con su docente, con la finalidad de revisar su desempeño en el tema después de haber usado la aplicación.

**RESULTADOS**

Los siguientes resultados fueron obtenidos trayendo en funcionamiento la aplicación en los celulares o Tablet de los alumnos y se muestran en tabla 1.

**Tabla 1:** Resultados de las variables de la Aplicación.

<b>Variable</b>	<b>Observaciones</b>
Escalabilidad	No presentó ningún problema la aplicación al ejecutarse en las distintas versiones del sistema operativo Android desde un Gingerberg hasta un Lollipop
Fiabilidad	Al acceder a las distintas pantallas la información mostrada y la interacción fue sin pérdida de datos e imágenes
Uso de recursos	Los recursos que utiliza la aplicación para ejecutarse en los dispositivos móviles fue mínima tanto en consumo de memoria RAM como en uso del procesador.
Estrés	Una vez ejecutada la aplicación se comenzó a acceder las distintas pantallas presentando un funcionamiento uniforme. Así mismo se dejaron corriendo en el dispositivo móvil otras aplicaciones por lo que su desempeño fue el mismo
Estabilidad	Al momento de interactuar entre la misma aplicación y con otras aplicaciones del dispositivo no presentó ninguna alteración de ejecución

**CONCLUSIONES**

Al observar a los alumnos de 3G con el uso de la aplicación aplicándolo al tema de Tiro Parabólico, se tiene una interacción aceptable entre la aplicación y el alumno, así como el manejo de simuladores para la comprensión de un problema en particular y comprobación de resultados con sus ejercicios del cuaderno.

**Tabla 2:** Resultados del nivel de logro de la competencia

		Escucha, interpreta y emite mensajes pertinentes en distintos contextos mediante la utilización de medios, códigos y herramientas apropiados.			
		<b>Bueno</b>	<b>Regular</b>	<b>Suficiente</b>	<b>Insuficiente</b>
Número de	alumnos	24	6	0	0
%		80 %	20 %	0	0

**BIBLIOGRAFÍA**

- Castillo, A. et al (2010). Casos de uso para el desarrollo de una aplicación de aprendizaje móvil. Universidad Tecnológica de Panamá. Disponible en: [http://www.iiis.org/CDs2012/CD2012SCI/CISCI\\_2012/PapersPdf/CA919BT.pdf](http://www.iiis.org/CDs2012/CD2012SCI/CISCI_2012/PapersPdf/CA919BT.pdf)
- Gasca Mantilla, Maira Cecilia; Camargo Ariza, Luis Leonardo; Medina Delgado, Byron. (2014). Metodología para el desarrollo de aplicaciones móviles. *Tecnura*, Abril-Junio, 20-35. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=257030546003>
- Labmexico.com, televisa, Millward Brown (2015). Estudio de consumo de medios y dispositivos entre internautas mexicanos. Disponible en <http://iabmexico.com/consumo-medios-y-dispositivos-mexicanos>
- Lozano, I. et al (2013). Motivar y aprender con el móvil creando una aplicación para Android, mediante una metodología lúdica, constructivista y social [Internet] *Revista de educación a distancia*. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=54725668003>
- Ramos, E. (2013). *Juegos y aplicaciones para red de bienestar*. [Internet] Universidad de Cataluña. Disponible en: <http://upcommons.upc.edu/handle/2099.1/17509>
- Ramos, E. (2013). *Juegos y aplicaciones para red de bienestar*. [Internet] Universidad de Cataluña. Disponible desde: <http://upcommons.upc.edu/handle/2099.1/17509>
- Revista Forbes, recuperado en <http://www.forbes.com.mx/android-e-ios-dominaran-el-mercado-casi-para-siempre/#gs.6F6hZio> el 18/08/2016
- Plan de estudios 2010 Universidad de Guanajuato, Colegio del Nivel Medio Superior, recuperado de [http://www.colegionms.ugto.mx/images/PDF/Programas\\_2013/Tercero/FISICA\\_I.pdf](http://www.colegionms.ugto.mx/images/PDF/Programas_2013/Tercero/FISICA_I.pdf) , 18 de Agosto de 2016



## DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN EXTRACTOS OBTENIDOS CON DISOLVENTES DE DISTINTA POLARIDAD DE DOS ESPECIES DE *Commelinaceas*.

Cuenca Maldonado DE<sup>1</sup>; Herrera Salas R<sup>1</sup>, Chavelas Adame EA<sup>1</sup>. [eneas\\_02@yahoo.com.mx](mailto:eneas_02@yahoo.com.mx)

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero.

### RESUMEN

*Tradescantia spathacea* y *Tradescantia zebrina* son plantas pertenecientes a la familia *Commelinaceae*, originarias de nuestro país y se encuentran ampliamente distribuidas en las zonas tropicales y subtropicales de ambos hemisferios en el mundo. En nuestro país estas dos especies son utilizadas con fines ornamentales, sin embargo diversas comunidades la utilizan como parte de la herbolaria tradicional para el control o cura de diversos padecimientos que van desde enfermedades gastrointestinales, erisipela, dolor e infecciones locales y micóticas, antihemorrágicos, hiperglicémicos, hasta cáncer. Aunque sus usos son conocidos en la medicina tradicional, no hay estudios de validación científica que lo confirmen. Recientemente se ha asociado el efecto antioxidante y antimicrobiano a la presencia de compuestos fenólicos en extractos acuosos y metanólicos, sin embargo los datos reportados son en su mayoría cualitativos. Por tanto el objetivo de este trabajo fue realizar la comparación del contenido total de compuestos fenólicos (fenoles, flavonoides y antocianinas) en extractos disolventes de distinta polaridad, tales como Hexano, acetato de etilo, acetona, etanol, metanol y agua. La determinación del contenido de fenoles totales se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu, el contenido de flavonoides totales se determinó mediante el método de Liu y finalmente para la determinación del contenido total de antocianinas se utilizó el método de pH diferencial. Los resultados obtenidos demuestran que *T. spathacea* presenta mayores contenidos fenólicos en agua y acetona, mientras que para *T. zebrina* los compuestos fenólicos son más abundantes en extractos de etanol y agua. Esto es importante debido a que el uso y consumo de la planta por las distintas comunidades se da principalmente a través de infusiones y extractos etanólicos. Así, de manera general podemos concluir que el mayor rendimiento de compuestos fenólicos se obtiene mediante la extracción de metabolitos secundarios con solventes polares y de mediana polaridad.

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad las plantas medicinales son de gran importancia en la investigación, debido a las actividades biológicas que presentan y a su recurrencia en el uso como terapia complementaria para tratar enfermedades o afecciones en el ser humano primordialmente. Las plantas pertenecientes a la familia *Commelinaceae* son ampliamente utilizadas con fines ornamentales y gozan de buena aceptación en el sureste mexicano para el control de la diabetes y cura de diversas enfermedades o padecimientos, que van desde enfermedades gastrointestinales hasta padecimientos como el cáncer (Díaz *et al.*, 2008). Se han realizado estudios comprobando que las especies *T. spathacea* y *T. zebrina*, presentan actividades principalmente, antioxidantes, hipoglucemiantes, antiinflamatorias, antibacterianas y para el caso de *T. spathacea* actividad antineoplásica. Es de suma importancia reconocer que estas características medicinales son provistas gracias a sus metabolitos secundarios, entre los cuales destacan los compuestos fenólicos (fenoles, flavonoides y antocianinas) por su reconocida importancia médica. Se ha demostrado que la concentración de compuestos fenólicos y otros metabolitos secundarios en las plantas puede variar las condiciones geográficas y ambientales que influyan en el crecimiento de la planta. Asimismo, el rendimiento obtenido de cada uno de los grupos de metabolitos puede verse influenciado por el tipo de disolvente utilizado. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo realizar la comparación del contenido total de compuestos fenólicos (fenoles, flavonoides y

antocianinas) en extractos de hojas obtenidos mediante el uso de al menos 6 disolventes de distinta polaridad.

## TEORÍA

Según la APG II (Angiosperm Phylogeny Group II system) la familia *commelinaceae* está compuesta por 40 géneros y 652 especies (APG II, 2003). Los géneros más conocidos son *Commelina* (230 especies), *Tradescantia* (74 especies), *Aneilema* (60 especies), *Murdannia* (45 especies), y *Callisia* (20 especies) (Faden, R., 1998; Bonifacio *et al.*, 2015).

**T. spathacea:** también conocida como *Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn o comúnmente conocida como Maguey morado (Guadarrama, 1987). Es una planta de 40 cm de altura, de variable número de hojas intercaladas de 20 a 35 cm de longitud y de 3 a 5 cm de ancho, de color verde en el haz y morado oscuro en el envés, tiene flores blancas, pequeñas y olorosas con tres pétalos ovalados de 5 a 8 mm de largo y estambres libres con filamentos barbados en la parte inferior, que nacen en las axilas de las hojas envueltas por brácteas que asemejan la forma de un barco (Martínez, 1979) (Guadarrama, 1987) (Faden, 1998).

**T. zebrina:** esta planta también es reconocida con los nombres comunes de: apagafuego, doradilla, hierba del pollo, hoja de cucaracha, plateada, matalí (Faden, 1998; Espejo *et al.*, 2009). Es una planta herbácea, perenne con capacidad para desarrollar raíces fibrosas en los nudos; de tallos cilíndricos, algo carnosos, glabros; hojas oblongo-elípticas, de ápices agudos a acuminados, redondeados y algo oblicuos en la base, verdes y/o purpúreas en el haz con presencia de dos bandas plateadas a los costados y purpúreas en el envés; flores de 1 cm de diámetro; sépalos angostamente elípticos, hialinos, conniventes; pétalos unguiculados y connados en la base formando un tubo, los lóbulos ovados, con 6 estambres, fértiles, bisexuales, actimorfos, comúnmente rosadas o purpura con tres pétalos que se agrupan en una estructura terminal de los tallos (Espejo *et al.*, 2009).

Ambas especies son consideradas de fácil adaptabilidad y se ha reportado que crecen en climas cálidos, semicálido, templados, lluviosos, húmedos, semisecos. En nuestro país se encuentran distribuidas principalmente en los estados de Yucatán, Quintana Roo, Campeche, Tabasco y Veracruz. Ambas, son utilizadas con fines ornamentales siendo su principal uso, sin embargo; diversas comunidades la utilizan como parte de la herbolaria tradicional para el control o cura de diversos padecimientos (Díaz *et al.*, 2008). Diversos estudios han demostrado que estas características medicinales presentes en el género *Tradescantia* se deben a sus metabolitos secundarios, destacando principalmente los compuestos fenólicos como potentes antioxidantes.

Previamente ya se ha destacado la relevancia medica de los compuestos fenólicos de las plantas (fenoles, flavonoides y antocianinas), los cuales pueden mostrar actividad antihepatotóxicas, antiinflamatorias, antidiarreicas, antiúlcera, antivirales, antialérgicas y vasodilatadoras, así como antioxidantes ya que pueden proteger a la célula del daño oxidativo y por lo tanto limitar el riesgo de varias enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo (Gutiérrez *et al.*; 2008).

Para la extracción de estos componentes a partir de material vegetal es importante considerar un aspecto importante como lo es la polaridad. Se ha comprobado que la polaridad juega un papel importante en el rendimiento de la extracción de metabolitos secundarios ya que aporta un medio apto o no para su disolución.

Beltrán Delgado y colaboradores (2013) realizaron la extracción de compuestos fenólicos de *Pleurotus ostreatus*, empleando disolventes de distinta polaridad, registrando en sus resultados que las concentraciones de compuestos fenólicos fue mayor en extractos polares en comparación con las obtenidas en extractos de baja polaridad (Beltrán *et al.*, 2013) (Cedron *et al.*, 2011).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Obtención de los extractos

Para la obtención de los extractos se emplearon disolventes de distinto índice polaridad (IP) tales como: hexano (IP 0), diclorometano (IP 3.4), acetato de etilo (IP 4.3), etanol (IP 5.2), acetona (IP 5.4), metanol (IP 6.6) y agua (IP 9). Se pesó 1 gramo de hojas secas previamente homogeneizadas y se diluyeron en 25mL de cada disolvente. La mezcla obtenida se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas a 3500 rpm.

### Determinación de fenoles totales

Para la determinación de fenoles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu, Se utilizó una solución de ácido gálico a 20 µg/µL como estándar de calibración, tomando volúmenes de 0 µL a 140 µL con añadidos de 20 µL en cada volumen adicionado, con lo que se construyó la curva de calibración. A cada una de las muestras y estándares previamente preparados con la cantidad de agua destilada correspondiente se les adicionó 300 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu, posteriormente se les agregó 800 µL de carbonato al 7.5 %, se metió a baño maría a 50°C por 10 minutos. La absorbancia fue medida a 760 nm. Los resultados se expresaron en mg de ácido gálico por g de hoja seca (mg GAE/ g de hoja seca).

### Determinación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides se determinó mediante el ensayo propuesto por Liu y Col (2002). Para la curva de calibración se utilizó una solución estándar catequina a 0.1 mg/mL, de la cual se tomaron volúmenes desde 0 µL a 100 µL, con incrementos de 20 µL en cada volumen añadido y fue medida a 510 nm en el espectrofotómetro. A cada uno de los estándares y muestras previamente preparados se le adicionaron 75 µL de NaNO<sub>2</sub> al 5% y se dejó reposar 6 minutos. Se adicionaron 150 µL de AlCl<sub>3</sub> al 10% y se dejó reposar 5 minutos adicionales posteriormente se adicionaron 500 µL de NaOH 1M Se aforó a un volumen de 2500 µL con agua destilada. La absorbancia se midió a 510 nm antes de 30 minutos. Los resultados fueron expresados en mg de catequina por g de hoja seca (mg CATE/ g de hoja seca).

### Determinación de antocianinas totales

Para determinar la concentración de antocianinas se utilizó el método de pH diferencial propuesto por Giusti y Wrolstad (2001), el cual consiste en: adicionar en un tubo eppendorf 600 µL del extracto posteriormente se adicionaron 1200 µL de buffer de pH 1, para proceder a su lectura espectrofotométrica a 516 nm y 700 nm. Del mismo modo se tomaron 600 µL del extracto y se le agregaron 1200 µL de buffer de pH 4.5 para después realizar su lectura por espectrometría, las medidas experimentales fueron colectadas por triplicado.

## RESULTADOS

### Determinación de fenoles

La curva de calibración obtenida para este ensayo se muestra en la figura 1, en la tabla 1 se muestra las concentraciones de fenoles totales de ambas especies de *Tradescantia*.

Los resultados demuestran que el tipo de disolvente influyó en el rendimiento de extracción de fenoles totales. Siendo los extractos de mediana polaridad los que presentaron mayores concentraciones en ambas especies de plantas.



Figura 1. Curva de calibración de ácido gálico. Correlación lineal entre la absorbancia medida y las distintas concentraciones de ácido gálico. El ajuste

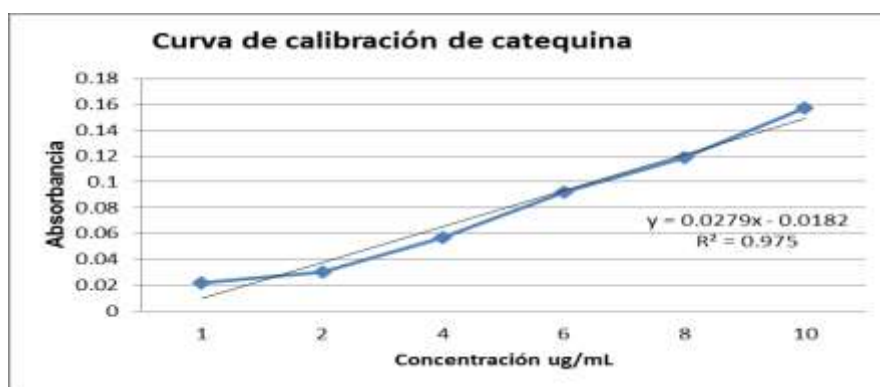
**Tabla 1: Contenido de fenoles totales *T. spathacea* y *T. zebrina***

Disolvente	<i>T. zebrina</i>	<i>T. spathacea</i>
Hexano	234.6 ± 38.2 <sup>e</sup>	83.8 ± 15.4 <sup>f</sup>
Diclorometano	2154.7 ± 112.9 <sup>c</sup>	ND
Acetato de etilo	2323.3 ± 101.7 <sup>c</sup>	491.5 ± 90.2 <sup>e</sup>
Etanol	4748.9 ± 132.4 <sup>a</sup>	849.9 ± 28.5 <sup>b</sup>
Acetona	2896.6 ± 84.3 <sup>b</sup>	967.8 ± 41.6 <sup>a</sup>
Metanol	2597 ± 149.1 <sup>b</sup>	773.7 ± 64.7 <sup>c</sup>
Agua	1193.6 ± 39.9 <sup>d</sup>	548 ± 40.7 <sup>d</sup>
Metanol*	620.9 ± 39.7*	432.6 ± 100**
		203.9 ± 16.3*
		5374 ± 1242***

Los valores se expresan como el promedio de al menos 3 mediciones ± 1 desviación estándar. El análisis estadístico posterior al ANOVA se realizó mediante el test de Tukey (P<0.05). Letras diferentes significan diferencia estadística, letras similares sin significancia estadística. Las unidades para fenoles son mg GAE/100 g de hoja en base seca. \*Resultados obtenidos por Lee Tan, 2014 expresados en mg GAE/100 g de hoja en base húmeda para *T. zebrina* y *T. spathacea variegata*. \*\* Resultados obtenidos por Lee Tan, 2013 expresados en mg GAE/100 g de hoja en base húmeda para *T. spathacea*. \*\*\* Resultados obtenidos por Lee Tan, 2013 expresados en mg GAE/100 g de hoja en base seca para *T. spathacea*.

**Determinación de flavonoides totales**

La curva de calibración obtenida para este ensayo se muestra en la figura 2, en la tabla 2 se muestra las concentraciones de flavonoides totales de ambas especies de *Tradescantia*. Los resultados demostraron que se presentó el mismo comportamiento observado en la determinación de fenoles totales, siendo que el tipo de disolvente utilizado influyó en el rendimiento de extracción. Las concentraciones máximas reportadas se observan en extractos de mediana y alta polaridad para ambas especies.



**Tabla 2: C** Figura 2. Curva de calibración de catequina. Correlación lineal entre la absorbancia medida y las distintas concentraciones de Catequina. El ajuste de los datos se realizó siguiendo el modelo de una recta simple:  $y = mx + b$ .

Disolvente	<i>T. zebrina</i>	<i>T. spathacea</i>
Hexano	ND	221.9 ± 38.6 <sup>c</sup>
Acetato de etilo	468 ± 56 <sup>c</sup>	373.5 ± 92.76 <sup>b</sup>
Etanol	2021.6 ± 173.6 <sup>a</sup>	622.1 ± 124.2 <sup>a</sup>
Acetona	1100.3 ± 158.2 <sup>b</sup>	444.8 ± 36.8 <sup>b</sup>
Metanol	560.6 ± 63 <sup>c</sup>	366.8 ± 29.3 <sup>b</sup>
Agua	493.7 ± 42.2 <sup>c</sup>	505.4 ± 72.9 <sup>a</sup>
Metanol*	17.1 ± 2.8	10.8 ± 2.9

Los resultados se expresan como el promedio de 3 mediciones ± 1 desviación estándar. El análisis estadístico posterior al ANOVA se realizó mediante el test de Tukey (P<0.05). Unidades para flavonoides: mg CATE/ 100 g de hoja, en base seca. \*Resultados obtenidos por Lee Tan, 2014 expresados en mg RE/100 g, en base húmeda. Para determinar diferencias estadísticamente. Letras diferentes significan diferencia estadística, letras similares sin significancia estadística.

### Determinación de antocianinas totales

En la tabla 3 se muestran las concentraciones de antocianinas totales para ambas especies de *Tradescantia*. Siendo los extractos de mediana polaridad los que presentaron mayores concentraciones de estos compuestos.

Disolvente	Índice de polaridad	Antocianinas en <i>T. zebrina</i> ***	Antocianinas en <i>T. spathacea</i> ***
Hexano	0.0	0.2998 ± 0.35	NP
Diclorometano	3.4	0.3460 ± 0.08	NP
Acetato de etilo	4.3	0.4325 ± 0.21	0.33550 ± 0.5
Etanol	5.2	2.7910 ± 1.37	1.7587 ± 0.19
Acetona	5.4	2.3182 ± 0.17	1.1107 ± 0.36
Metanol	6.6	2.0529 ± 0.31	2.2446 ± 0.26
Agua	9.0	0.2364 ± 0.04	1.0760 ± 0.17

Los resultados se expresan como el promedio de 3 mediciones ± 1 desviación estándar.  
 \*\*\* Unidades para Antocianinas mg L<sup>-1</sup> No se presentaron cuantificación (NP).

### CONCLUSIONES

- En la literatura se ha reportado la cuantificación e identificación de fenoles totales en un limitado número de disolventes (agua y metanol), sin embargo en el presente trabajo se hace evidente que los extractos preparados con disolventes de mediana polaridad reflejaron ser los más factibles para la extracción de compuestos fenólicos en ambas especies de plantas estudiadas, de los cuales; el etanol y la acetona fueron los mejores disolventes para la extracción de estos metabolitos.
- La especie *T. zebrina* presentó concentraciones superiores de hasta un 500% más en compuestos fenólicos en comparación con la especie *T. spathacea*. Asimismo, en la extracción de flavonoides la especie *T. zebrina*, presentó concentraciones superiores (en un 300%) en comparación con el género *T. spathacea*. Resultado que es concordante con lo reportado en la literatura.
- En el contenido de antocianinas en dichas especies trabajadas, presentaron cantidades similares en el rendimiento de estos metabolitos.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Beltrán Delgado, Y., Morris Quevedo, H., Reynaldo de la Cruz, E., Quevedo Morales, Y., Bermudez Savón, R., 2013. Content of Total Phenols in *Pleurotus sp.* Extracts obtained with solvents of different polarity. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas.* 32(2): 121-129.
2. Cartaya, O. & Reynaldo, I., 2002. Flavonoides: Características Químicas y Aplicaciones. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. 22(2): 5-14.
3. Espejo Serna, A., López Ferrari, A. R. y Ceja Romero, J., 2009. Commelinaceae. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes, (162): 1-2.
4. Faden, R., (1998). Commelinaceae In Flowering Plants—Monocotyledons and The families and genera of vascular plants. Germany: Springer:Berlin-Heidelberg, pp. 109-128.
5. Gutiérrez Avella, D., Ortiz García, A., y Mendoza Cisneros, A., (2008). Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación animal. Simposio de Metrología. :1-5
6. Lee Tan, J., Yap, W., Tan, S., Lim, Y., and Lee, S. (2014). Antioxidant Content, Antioxidant Activity, and Antibacterial Activity of Five Plants from the Commelinaceae Family. *PubMed.* 3(4): 758-769.
7. Martínez M., (1979). Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas medicinales. México: Fondo de cultura económica.